

Aus der Klinik für Haut- und Geschlechtskrankheiten der Universität  
W ü r z b u r g  
Vorstand: Professor Dr. med. H. S c h u e r m a n n

---

ZUR FRAGE DER INFERTILITÄT BEI NORMALEM SPERMABEFUND  
IM HINBLICK AUF ZAHL, MOTILITÄT UND MORPHOLOGIE

I n a u g u r a l - D i s s e r t a t i o n

verfaßt und der

Hohen Medizinischen Fakultät

der

Julius - Maximilians - Universität Würzburg

zur

Erlangung der medizinischen Doktorwürde

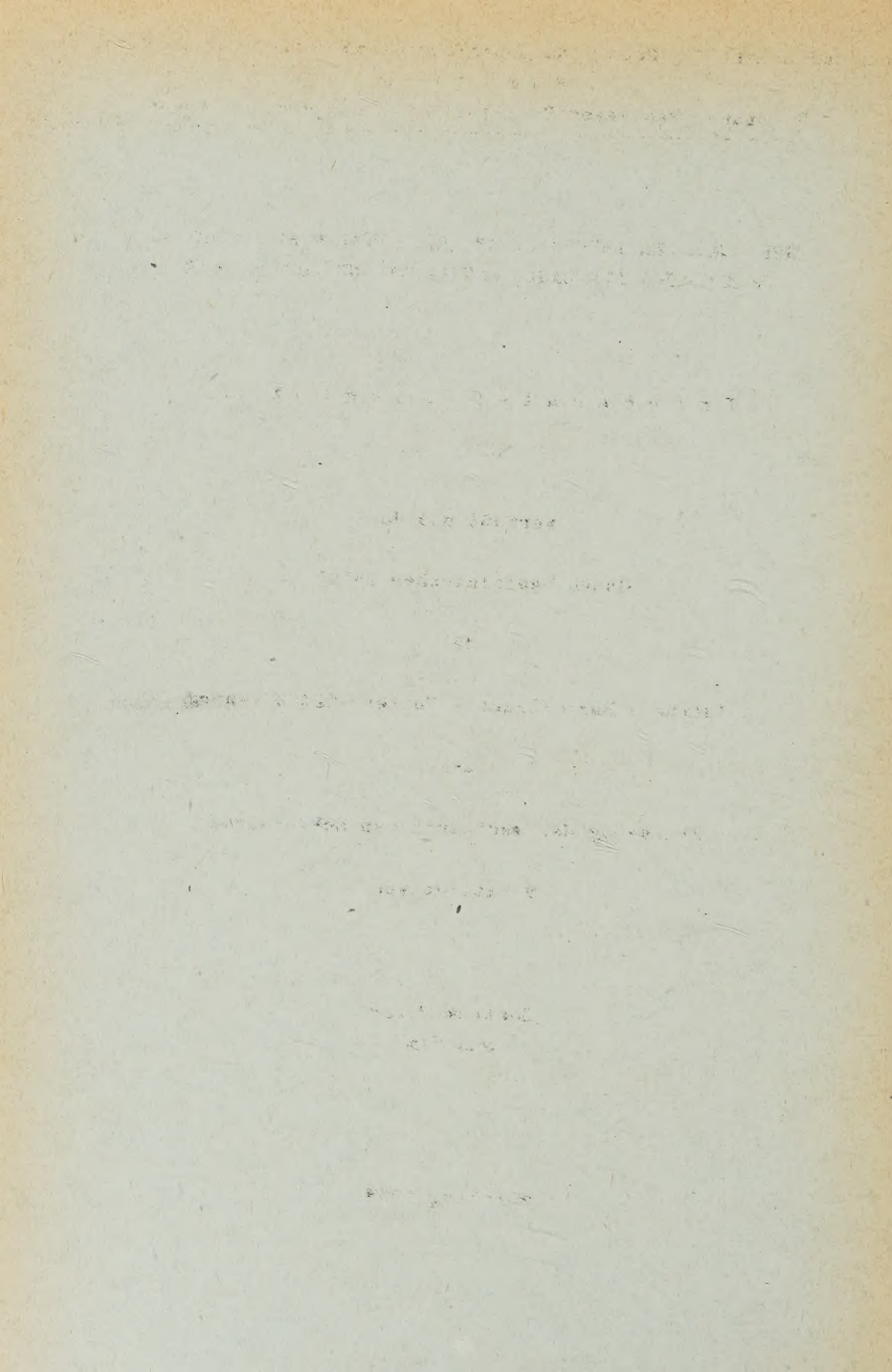
vorgelegt von

Guntram Peter

aus Elm

LANE MEDICAL LIBRARY  
SAN FRANCISCO

Würzburg 1958





Digitized by the Internet Archive  
in 2026

[https://archive.org/details/IA40153517\\_0091](https://archive.org/details/IA40153517_0091)



Aus der Klinik für Haut- und Geschlechtskrankheiten der Universität  
W ü r z b u r g  
Vorstand: Professor Dr. med. H. S c h u e r m a n n

---

ZUR FRAGE DER INFERTILITÄT BEI NORMALEM SPERMABEFUND  
IM HINBLICK AUF ZAHL, MOTILITÄT UND MORPHOLOGIE

I n a u g u r a l - D i s s e r t a t i o n

verfaßt und der

Hohen Medizinischen Fakultät

der

Julius - Maximilians - Universität Würzburg

zur

Erlangung der medizinischen Doktorwürde

vorgelegt von

Guntram Peter  
aus Ulm

Würzburg 1958

**Referent:** Privatdozent Dr. R. Doepfmer  
**Korreferent:** Professor Dr. H. Schuermann

**Datum der Promotion:**

**28. 2. 58**

Gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät der  
Universität Würzburg

**Meiner Mutter**

# DISPOSITION

|                                                                 | Seite |
|-----------------------------------------------------------------|-------|
| A. Einleitung                                                   | 1     |
| B. Spermmunität                                                 | 3     |
| Allgemeines                                                     | 3     |
| Tierversuche                                                    | 3     |
| Klinische Untersuchungen                                        | 4     |
| Spermatotoxische Wirkung des Serums von Gravidem                | 5     |
| Antimucinase-Bildung                                            | 6     |
| Temporäre Infertilität                                          | 6     |
| Ablehnende Stimmen                                              | 6     |
| C. Spermatozoen und die weiblichen Geschlechtswege              | 7     |
| Milieu                                                          | 7     |
| Mucinase                                                        | 9     |
| Reaktionsbreite des Spermis                                     | 9     |
| D. Fruktose und Fruktolyse                                      | 11    |
| Fruktose-Bestimmung                                             | 11    |
| Fruktose-Werte                                                  | 11    |
| Physiologie der Spermafruktolyse                                | 13    |
| Abbau der Fruktose                                              | 14    |
| Fermentchemisches Antikonzipiens                                | 15    |
| E. Nukleinsäuren und andere Bausteine der Spermatozoen          | 16    |
| Analyse der Nukleoproteine                                      | 16    |
| Nachweis der Desoxyribonukleinsäure                             | 17    |
| Desoxyribonukleinsäure-Gehalt und Fertilität                    | 18    |
| Desoxyribonukleinsäure-Gehalt und Arginin                       | 24    |
| Spermatozoen und Kataphorese                                    | 24    |
| Überträger der Erbanlage                                        | 24    |
| F. Stoffe, die in den Spermatozoen und im Plasma enthalten sind | 25    |
| Proteine                                                        | 25    |
| Aminosäuren                                                     | 27    |
| SH-Gruppen und schwefelhaltige Aminosäuren                      | 29    |
| Adenosintriphosphorsäure                                        | 31    |
| Metalle                                                         | 31    |
| Inosit                                                          | 33    |
| Heptakosan                                                      | 33    |
| Zitronensäure                                                   | 33    |
| Harnstoff                                                       | 35    |
| Fette, Fettsäuren, Lipide                                       | 35    |
| Spermin und Spermidin                                           | 36    |
| Plasmalogen                                                     | 36    |
| Spermalysin                                                     | 37    |
| Spermatolysin                                                   | 38    |
| Phosphorverbindungen                                            | 38    |

|                                |    |
|--------------------------------|----|
| G. Fermente                    | 39 |
| Phosphatase                    | 39 |
| 5-Nukleotidase                 | 42 |
| Hyaluronidase                  | 43 |
| Allgemeines                    | 43 |
| Vorkommen                      | 44 |
| Stoffwechsel                   | 47 |
| Chemische Wirkung              | 48 |
| Aktivatoren und Inhibitoren    | 50 |
| Antikörper                     | 51 |
| Medizinische Bedeutung         | 53 |
| Die Rolle bei der Konzeption   | 53 |
| Verdünnungseffekt              | 56 |
| Hyaluronidase und Sperma       | 56 |
| Dispersion                     | 59 |
| Transport des Eies             | 60 |
| Hyaluronidase und Abort        | 61 |
| Inhibitoren als Antikonzipiens | 62 |
| Carbohydrasen                  | 62 |
| Dehydrasen                     | 63 |
| Zytochrome                     | 63 |
| Esterasen                      | 64 |
| Aminooxydase                   | 64 |
| Proteolytische Fermente        | 65 |
| H. Vitamine                    | 67 |
| I. Zusammenfassung             | 69 |
| Quellenverzeichnis             | I  |



## EINLEITUNG

Die Kinderlosigkeit und damit die Probleme der Fertilität beschäftigen die Menschheit nachweisbar schon seit den biblischen Zeiten. Im Altertum ist es Hippokrates, dem das große Verdienst gilt, erstmalig darauf hingewiesen zu haben, daß nicht allein und nicht stets die Frau an der sterilen Ehe Schuld trägt. Bei fast allen Naturvölkern findet man bis in unsere Zeit Riten und Handlungen, die eine Unfruchtbarkeit von Mensch und Tier abwenden sollen. Besonders unser Mittelalter war reich an einer Unzahl der absonderlichsten Vorstellungen über die Sterilität und ebenso gespenstischer Mittel zu deren Behandlung.

Während mit Sterilität stets die Unfruchtbarkeit der Ehegemeinschaft gemeint ist, bezieht sich der Begriff der Infertilität auf die Zeugungsunfähigkeit des einzelnen Ehepartners. Beim Mann kann dieser Begriff in Impotentia coeundi und Impotentia generandi unterteilt werden. Erstere Form der männlichen Infertilität ist ihrer auffälligen Symptome wegen schon immer in weiteren Kreisen bekannt gewesen. Ihre Ursachen allerdings, die weit verteilt in Soma und Psyche des Menschen zu suchen sind, bleiben noch immer Anlaß zu vielen ätiologischen, diagnostischen und therapeutischen Erörterungen. Der Begriff der Impotentia generandi jedoch läßt sich zwar ebenfalls bis in die ältesten Medizinsysteme der Menschheit, z.B. der Griechen, Inder und alten Ägypter, zurückverfolgen, hat aber in das Blickfeld breiterer Volksschichten erst in neuerer Zeit seinen Eingang gefunden und wurde dann durch genauere Untersuchungen des Ejakulates, seiner chemischen und morphologischen Bestandteile, sowie durch Berücksichtigung der männlichen Keimdrüsen und der

samenabführenden Wege näher erforscht.

Noch vor 50 Jahren wurde es als eine fast unumstößliche Tatsache angesehen, daß die Ursache einer sterilen Ehe stets bei der Frau zu finden sei. Erst in den letzten Jahren ist es immer klarer geworden, ein wie großer Faktor bei der kinderlosen Ehe die männliche Infertilität darstellt. Neuere Angaben der in- und ausländischen Literatur bezeichnen übereinstimmend 10 bis 15 % aller Ehen als steril. Davon werden 40 bis 60 % durch Störungen der Frau, 30 bis 50 % durch Störungen des Mannes bedingt. 2 bis 5 % sind durch noch unbekannte Faktoren bei beiden Partnern gleichzeitig verursacht.

An der Universitäts-Hautklinik Würzburg fanden sich unter 300 infertilen Männern 12 Patienten, bei denen im Sperma im Hinblick auf Zahl, Motilität und Morphologie kein pathologischer Befund erhoben werden konnte. Auch bei eingehenden gynäkologischen Untersuchungen ihrer Ehefrauen ergaben sich keine Anhaltspunkte für die Kinderlosigkeit. Aus diesem Grunde wurde in der in- und ausländischen Literatur nach Mitteilungen gesucht, die Hinweise geben können für die Ursachen einer Fertilitätsstörung trotz völlig normalen Spermabefunds. In dieser Arbeit werden nun die einzelnen Möglichkeiten für eine wahrscheinliche Infertilität erörtert, die sich aus der chemischen Zusammensetzung des Ejakulates und der Spermatozoen, den Fermentsystemen, der Fruktolyse und der Spermaimmunität ergeben.



Mc CARTNEY stellte Untersuchungen bei Ratten und Hühnern an. Als Antigen diente ihm eine Suspension von Rattenspermatozoen in Ringerflüssigkeit. Kontrollversuche führte er mit dem Speicheldrüsenextrakt der Ratte durch. Als Beweis der eingetretenen Immunität sieht er die Verzögerung der Gravidität an, wenn eine immunisierte Ratte von einem normalen Bock belegt wird. Die Ursache soll in einer Anwesenheit von Spermatoxinen in dem Vaginal- und Uterinsekret liegen, das in bedeutend stärkerer Weise als die Sekrete unbehandelter Tiere die Spermatozoen unbeweglich macht und agglutiniert. Die Stärke der Immunisierung ist der Menge des injizierten Antigens proportional. Durch subkutane Spermatozoen-Injektion soll sich bei den männlichen Ratten temporär eine Atrophie des Hodens, zum Teil völlige Degeneration hervorrufen lassen. Im Hoden finden sich dann keine oder nur unbewegliche Samenfäden.

Bei Hühnern wird durch subkutane Injektion von Sperma die Legetätigkeit nicht beeinflusst. Dagegen sind die Eier zwischen dem 12. und 67. Tage nicht brutfähig. Kontrollversuche mit Leberextrakten blieben ohne Wirkung.

ARDELT erzeugte eine temporäre Sterilität beim weiblichen Kaninchen durch Spermatoxine. Er injizierte Kaninchen subkutan Bullenspermatozoen. 1ccm Ejakulat enthielt durchweg 20 Millionen Samenfäden. Im ganzen machte er 4 Injektionen mit steigender Spermamenge (50, 100, 200, 250 Millionen Spermien). Die mit einer Spermainjektion behandelten Tiere waren nach neun Monate langer Beobachtungszeit trotz Kopulation mit normal fertilen männlichen Kaninchen steril. Zum Nachweis der Antikörperbildung diente ihm die Serumuntersuchung der weiblichen Tiere. Die Antikörper wurden durch Agglutination in vitro, durch direkte Beobachtung der Spermatoxinwirkung auf bewegliche Spermien und durch Komplementablenkung nachgewiesen. (Parallele Kontrollen mit Normalserum.) ARDELT zieht aus diesen Versuchen den Schluß, daß durch die parenterale Spermazufuhr Antikörper gebildet werden, die nicht spezifisch für die betreffenden zur Sterilisation verwandten Spermien, sondern überhaupt für alle Spermaarten sind. Die Spermien zeigen Organspezifität. Bei Tieren kann man durch heterologe Spermien Sterilität auslösen.

HENLE und Mitarbeiter erzeugten durch Einspritzungen von Sperma-Suspensionen im Kaninchen ein spezifisches Antiserum, das intaktes Sperma agglutiniert. Bei parenteraler Zufuhr von Spermienköpfen gab es Kopfagglutinationen, bei Verwendung von Spermaschwänzen Schwanzagglutinationen.

### Klinische Untersuchungen

ARDELT untersuchte die Spermaresorption von 229 Frauen. Dabei diente ihm die Komplementablenkung im Blute, hervorgerufen durch die Spermatoxine, als Kriterium für die Resorption des Ejakulates. Er kommt zu dem Schluß, daß der Spermaimmuntiter im Blutserum stark abhängig von der Frequenz der Kohabitationen ist. Das beim Coitus in die Vagina entleerte Sperma soll dort resorbiert werden, um dann im Körper als Antigen immunisatorische Vorgänge hervorzurufen. Je höher im Blute nun der Spermaimmuntiter ansteigt, desto geringer seien die Möglichkeiten, daß eine Konzeption stattfinden könnte. Die zur Kontrolle ausgeführten Untersuchungen des Serums von Virgines ergaben stets negative Resultate.

### Spermatotoxische Wirkung des Serums von Graviden

LOTZE versuchte bei Tieren eine temporäre Sterilisierung zu erreichen. Als er nun das Serum von trächtigen Tieren zu subkutanen Injektionen von nicht graviden Weibchen verwandte, erzielte er bei so behandelten Tieren eine temporäre Infertilität. Daraus zieht er den Schluß, daß das Serum von Schwangeren eine spermatotoxische, bzw. spermatozide oder eine spermatolytische Wirkung auszuüben vermag. Nach LOTZE sollen die Sera von Frauen im letzten Schwangerschaftsdrittel stärker spermatozid wirken als die Sera des zweiten Schwangerschaftsdrittels.

## Antimucinase Bildung

Der Südamerikaner C.J. ESCUDER soll Frauen mit Spermaextrakten immunisiert haben und so eine biologische Infertilität herbeigeführt haben. Er injizierte den Patientinnen Spermaextrakte intragluteal. Auf diese Weise soll in 50 % der Fälle eine spermatotoxische Wirkung des Zervikalsekretes erzielt worden sein, die 9-15 Monate anhielt. Er nimmt die Bildung von Antimucinase als Ursache der auf diese Art erzielten künstlichen Infertilität der Frau an.

## Temporäre Infertilität

STIASNY ist der Ansicht, daß der letzte Krieg zahlreiche Beweise für die Spermaimmunität geliefert hatte. Durch die oft lange Zeit andauernde Trennung der Ehepartner sei in solchen kinderlosen Ehen, wo bei beiden Partnern kein klinischer Grund für die jahrelange Infertilität zu eruieren war, bei nach der langen Trennung erfolgten erneuten Kohabitation prompt eine Konzeption eingetreten. Als Grund hierfür sieht er die infolge der langen sexuellen Abstinenz erloschene Spermaimmunität der Ehefrau an.

## Ablehnende Stimmen

Die spermiozide Rolle der Spermaimmunität, hervorgerufen durch die Resorption der Spermien im weiblichen Körper, wird durch QUICK, WANG, BRUNNER und MOENCH abgelehnt. Sie konnten durch Einspritzungen von Sperma kein Absinken der Fertilität herbeiführen. Wenn Antikörper auftraten, so sollen diese wenig oder gar keinen Einfluß auf die Spermien gehabt haben. Sperma-Agglutinine und Sperma-Toxine konnten von ihnen nicht nachgewiesen werden, außer bei parenteraler fremder Eiweißzufuhr.

MOENCH ist außerdem der Ansicht, daß der Spermaimmunität beim Menschen deshalb keine allzu große Bedeutung beizumessen sei, da sie theoretisch ja nur bei sehr häufigem Geschlechtsverkehr auftreten kann. Dies sei aber sehr selten bei einem

ratsuchenden sterilen Ehepaar der Fall. Denn meistens bestände die Ehe schon einige Jahre, und der vielleicht zu Anfang im Übermaß gepflegte sexuelle Verkehr sei in der Zwischenzeit auf normale, physiologische Grenzen zurückgegangen. Er konnte bei seinen Patienten nur 2 Fälle von gehäuftem Koitus feststellen. Von dem einen Paar sei der Geschlechtsverkehr 2-3 mal nächtlich ausgeführt worden, während bei dem andern Paar die Kohabitation 5-6 mal während der Woche stattgefunden habe. Bei den Gattinen dieser Männer sei weder serologisch noch mikroskopisch irgend ein Anhaltspunkt für die Spermmunität zu finden gewesen. Das Serum der Frau hätte in beiden Fällen nicht mehr und nicht weniger Einfluß auf die betreffenden Spermatozoen oder auch auf fremdes Sperma gehabt, wie das normale Serum anderer Frauen, in dem sich die Spermien viele Stunden hätten am Leben halten können.

## SPERMATOZOEN UND DIE WEIBLICHEN GESCHLECHTSWEGE

### Milieu

Da die Befruchtung im allgemeinen in der Tube stattfindet, haben die Spermien einen relativ weiten Weg zurückzulegen. Beim Menschen benötigen sie zur Durchwanderung des Uterus im Durchschnitt 27 Minuten und zum Durchgang der Tube etwa 42 Minuten. Selbst unter ungünstigsten Bedingungen dürften die Spermien also den Ort der Befruchtung nach wenigen Stunden erreicht haben. Daß ein enger Zervixkanal, der für rote Blutkörperchen von der Größe von  $7\ \mu$  durchlässig ist, die Spermienköpfe, welche nur  $4\ \mu$  lang und etwa  $2,5\ \mu$  breit sind, zurückhält, ist an sich unmöglich. Trotzdem kann es sein, daß die Schleimhäute der Zervix einander so eng aufliegen, um den Spermien das Eindringen in erheblichem Maße zu erschweren. Das Hindernis läßt sich in diesem Falle leicht durch Zervixdilatation beseitigen. Allerdings ist die Durchlässigkeit des Zervikalkanals für eine kleine Sonde nicht beweisend, daß für die Spermatozoen kein Hindernis vorliegt, denn in diesem Falle werden die Schleimhäute ja rein mechanisch auseinander geschoben.

Im Gegensatz zu dem nur kurzlebigen Ei sollen sich die Spermien in dem oberen Teil des Genitaltraktes bis zu 5 Tagen lebensfähig und auch befruchtungsfähig erhalten können. TYLER wies im Zervikalkanal noch nach mehr als 48 Stunden lebende Spermatozoen nach.

Auf dem Weg zur Eizelle sind die Spermien einigen ungünstigen Milieubedingungen ausgesetzt, gegen die sie durch besondere Einrichtungen geschützt werden. Sehr ungünstig wirkt sich der normalerweise saure ph-Wert des Vaginalsekretes, der durch die normal Bakterienflora der Scheide unterhalten wird, auf die Vitalität der Spermatozoen aus. Da die Spermien in dieser Umgebung bald ihre Beweglichkeit einbüßen würden, besitzen sie zum Ausgleich dieser sauren Reaktion eine hohe Pufferungsfähigkeit. Zahlreiche Messungen ergaben, daß das Samenplasma alkalisch reagiert und einen ph-Wert von 7,5 besitzt, der für die Spermatozoen optimal ist. Im Sekret des Zervikalkanales finden wir die gleichen optimalen Lebensbedingungen mit dem gleichen ph-Wert, wie er für das Ejakulat typisch ist. Andererseits bietet die Cervix mit ihrem Schleimpropf den Spermien ein starkes Hindernis.

Die Menge und die Viskosität des Zervikalschleimes zeigt rhythmische Veränderungen, die vom Ovarialzyklus, genauer gesagt vom Follikelhormonspiegel abhängig sind. Nach NIENDORF erhöht der hohe Oestrogenspiegel in der Proliferationsphase die Menge und die Viskosität des Zervikalschleimes so stark, daß die Spermien nicht mehr ascendieren können. Erst nach dem Follikelsprung um den 12.-15. Tag post menstruationem sinkt die Oestrogen-Produktion ab. Infolgedessen vermindert sich die Viskosität des Zervikalschleimes außerordentlich stark. Durch dieses an Kohlehydraten reiche, dünne Zervikalsekret können die Spermatozoen dann leicht in die oberen Genitalabschnitte überwandern. Außerdem sollen die Spermien in diesem, nach der Ovulation abgesonderten Schleim länger überleben und vital bleiben können, als in ihrem eigenen Spermaplasma. Mit dem vollen Einsetzen der Funktion des Corpus luteum Hormones wird dieser Viskositätsabfall wieder rückgängig gemacht, so daß eine Konzeption aller Wahrscheinlichkeit nach nur in den Zwischenphasen, nämlich

in der Zeit nach dem Follikelsprung und dem Einsetzen der vollen Funktion des Corpus luteum möglich erscheint. Da der Oestrogenspiegel bei eingetretener Gravidität bis zum Ende der Schwangerschaft ständig hoch bleibt, ist auch der Zervikalschleim in diesem Zeitraum hoch viskös. Diese Konsistenzveränderung im Sinne eines Zäher- und Festerwerdens des Zervikalschleimes, soll weiteren Spermatozoen den Eintritt in den Uterus verwehren und dadurch einer Superfetation vorbeugen.

### M u c i n a s e

Schon 1927 haben die amerikanischen Gynäkologen KURZROK und MILLER berichtet, daß im menschlichen Sperma ein Enzym enthalten sei, das zur Auflösung des Schleimpropfes im Zervikalkanal beiträgt. Man kann *in vitro* Sperma auf Zervikalschleim einwirken lassen und beobachtet dann, daß innerhalb einiger Stunden der zähe Schleim ganz verflüssigt wird. Nach WALLENFELS liegt das ph-Optimum von diesem Enzym, welches dafür verantwortlich gemacht wird, bei einem ph-Wert von 5,2-5,9. Diese lytisch wirksame Substanz ist thermolabil, nicht dialysabel und läßt sich durch Phosphormolybdänsäure nicht ausfällen. Das Enzym soll nicht an die Gegenwart von Spermatozoen gebunden sein. Bei Mucin aus dem Uterus, der von eitrigen Entzündungen befallen war, konnte er keine lytische Wirkung auf den zervikalen Schleimpropf feststellen. WALLENFELS nimmt an, daß durch die bakterielle Infektion, wie sie bei eitrigen Entzündungen gegeben ist, eine Antimucinase gebildet wird, welche die Mucinase aus dem Sperma aufhebt. Dadurch soll eine Konzeption zum Teil sehr erschwert werden.

### R e a k t i o n s b r e i t e   d e s   S p e r m a s

In jedem normalen Ejakulat sollten genügend Spermatozoen vorhanden sein, die allen chemischen und physikalisch-chemischen Hindernissen, die ihnen das Milieu der weiblichen Geschlechtswege bietet, gewachsen sind. Es wäre nun denkbar, daß bei einem Samen, der nach jeder Richtung hin für normal befunden wurde,

eine mangelnde Widerstandskraft der einzelnen Spermien gegenüber der Reaktion des Milieus besteht, und daß hier die Ursache für manche sterile Ehe bei scheinbar völlig gesundem und normalem Partner zu suchen wäre. Ein normales Sperma enthält indifferente, acidophile und alkalophile Spermatozoen. Außerdem ist die Reaktionsbreite der Samenfäden sehr groß. Durch die aktionelle Reaktion des Milieus der weiblichen Geschlechtswege könnte eine gewisse Auswahl der zur Befruchtung geeigneten Spermatozoen getroffen werden.

JOEL konnte bei 3 unter 24 Fällen von Normospermie bei Männern mit gesunden Ehefrauen in kinderloser Ehe eine Verschiebung der Reaktionsbreite des Ejakulates feststellen. In 6 Fällen wurden von den Spermien zwar hypertone Säurelösungen vertragen, aber keine isotonen Alkalien. In 2 Fällen konnte das Gegenteil beobachtet werden.

Die Resistenz der Samenfäden eines Individuums ist immerwährenden Schwankungen unterworfen, wie sie ja von den anderen Faktoren des Ejakulates, nämlich der Anzahl der Spermatozoen, ihrer Beweglichkeit und ihrer Morphologie bekannt sind. Durch fortlaufende Untersuchungen an ein und demselben Patienten konnte das JOEL nachweisen. Ob diese Schwankungen eine Gesetzmäßigkeit im Sinne einer Periodizität darstellen, ist noch nicht geklärt.

Einen großen Einfluß auf die Spermienmotilität scheint die alkalische oder saure Reaktion auszuüben. Im sauren Milieu ist die Lebensdauer der Spermatozoen stark verkürzt, während bei höherer Alkalität eine Agglutination stattfindet. Wie oben angeführt, konnten JOEL und POLLAK in ihren Versuchen zeigen, daß man zwischen acidophilen und alkalophilen Spermatozoen zu unterscheiden hat. Weiterhin ist die Temperatur von nicht unbedeutendem Einfluß auf die Spermien. Erhöhte Temperatur verstärkt die Bewegungsintensität, verkürzt die Bewegungsdauer aber zugleich recht erheblich.

## FRUKTOSE UND FRUKTOLYSE

### Fruktose Bestimmung

Der im Samenplasma vorhandene Zucker besteht nach MANN ausschließlich aus Fruktose. Seine Bestimmung wird normalerweise nach der durch ROE modifizierten Methode von SELIWANOFF (zit.MANN) durchgeführt. Sie muß sofort ausgeführt werden, da nach der stattgefundenen Ejakulation die Fruktosewerte nicht konstant bleiben. Falls eine sofortige Messung der Fruktosewerte nicht möglich sein sollte, schlägt H.GROPPER die Einfrierung des Spermas mit einem festen Kohlensäure-Alkoholgemisch auf Temperaturen von 70-80 Grad vor, um dadurch, auch noch nach längerer Zeit, unveränderte Fruktosewerte zur genauen Bestimmung vorzufinden.

### Fruktose Werte

In der Literatur finden sich folgende Fruktosewerte des Spermas (T.MANN):

|                         | in Gamma / ccm |
|-------------------------|----------------|
| Harvey                  | 50 - 6400      |
| Landau                  | 1350 - 8070    |
| Reichenberger & Gossens | 1000 - 4000    |
| Nikolowski              | 1500 - 3000    |
| Raboch & Hradec         | 610 - 7600     |
| Mc Cullagh              | 2000 - 8000    |
| Davis & Mc Cune         | 591 - 5100     |
| Schirren                | 250 - 3500     |
| Herrera & Kehidai       | 1050 - 4440    |
| Belonoschkin            | 2000 - 6000    |
| H. Gröpper              | 1500 - 3000    |

MANN nimmt an, daß die Fruktose den Bläschendrüsen entstammt, wo sie schon lange vor dem Beginn der Spermiogenese gebildet sein soll. Ihre Menge ist vom Lebensalter offenbar unabhängig. Daß die Sperma-Fruktose abgebaut wird, zeigen die stünd-

lichen Messungen ihrer Werte. Sie wird von den Spermatozoen anaerob in Energie umgewandelt. Dieser Vorgang ist im Falle der Normospermie annähernd konstant. Nach 5 Std. vermindert sich der Fruktosegehalt des Spermaliquors etwa um 2/3 seiner ursprünglichen Menge. Bei Oligospermie ist der Abbau verlangsamt, bei Azoospermie findet er meist überhaupt nicht statt. Demnach ist die Schnelligkeit des Fruktoseabbaus von der Konzentration bzw. der Zahl und der Motilität der Spermatozoen abhängig. Ein anschauliches Beispiel dieser Tatsachen bieten die Ergebnisse der Untersuchungen von RABOCH und HRADEC über den Fruktosegehalt des Spermas von 181 Ejakulaten:

| Spermabefund             | Fruktose in mg% | Gesamtfruktose in mg% |
|--------------------------|-----------------|-----------------------|
| Normospermie             | 286             | 13,14                 |
| Obliterationsazoospermie | 299             | 14,25                 |
| Asthenospermie           | 263             | 10,33                 |
| Oligozoospermie          | 275             | 9,72                  |
| Oligozoospermie gravis   | 327             | 13,16                 |
| Testale Azoospermie      | 375             | 13,14                 |

BIRNBERG, SHERBER und KURZROK weisen ebenfalls daraufhin, daß die Fruktolyse einen linearen Verlauf aufweist, und direkt proportional der Zahl und der Bewegungsintensität der Spermatozoen ist. ROTHERSCHILD und BARNES, zit. HOPPE-SEYLER, geben an, daß sich im Bullensperma der Gehalt an Calcium, Chlor, Citrat und Gesamtstickstoff gegenüber dem Fruktosegehalt im Spermaliquor des Bullen streng proportional verhalten würde, so daß sich mit Hilfe der Konzentrationsbestimmung von Calcium, Chlor, Citrat und Gesamt-N der ungefähre Fruktosegehalt errechnen ließe. Nach BIRNBERG, SHERBER und KURZROK, sowie TYLER können die Fruktosewerte bei ein und demselben Individuum bei verschiedenen pH-Werten Unterschiede aufweisen. Nach GROPPER und NIKOLOWSKI ist nach langer Karenz, großem Ejakulatvolumen, normaler Spermiogenese und eventuell bei gewissen zentralnervösen Erkrankungen (z.B. nach Encephalitis) ein hoher Fruktosegehalt zu erwarten. Bei niederen Fruktosewerten schließen sie auf kurze Karenz, kleines Ejakulatvolumen und quantitativ und qualitativ veränderte Spermiogenese. Außerdem soll eine mangelnde

Ejakulatverflüssigung vorhanden sein. Weitere Ursachen eines niedrigen Fruktosegehaltes können chronische Erkrankungen von Nebenhoden, Samenleiter, Bläschendrüsen und Prostata sein. Beziehungen zwischen Spermienzahl und dem Anteil der Ejakulatmenge der accessoriellen Drüsen bestehen nicht. Nach der Meinung von SCHIRREN besteht eine gewisse Abhängigkeit des Fruktosegehaltes vom Androgenspiegel. TYLER hingegen verneint eine signifikante Wirkung von androgenen Stoffen auf die Spermafruktosewerte von vollständig endokrinen Hypogonaden. Eine Verbindung zwischen der 17-Ketosteroid-Ausscheidung und dem Fruktosespiegel konnte von ihm ebensowenig festgestellt werden. T.MANN und PARSONS sahen nach Kastrationen ein Absinken der Fruktosekonzentration, die sich durch wiederholte Gaben von Testosteron beheben ließ. Eine Beziehung zwischen der Morphologie, Motilität und Zahl der Spermien und dem Fruktosegehalt des Sperma-liquors konnten nicht festgestellt werden. Bei hyperglykämischen Zuständen eines Alloxandiabetes nimmt der Fruktosegehalt des Spermas zu, kann aber durch Insulingaben rasch gesenkt werden.

### Physiologie der Spermafruktolyse:

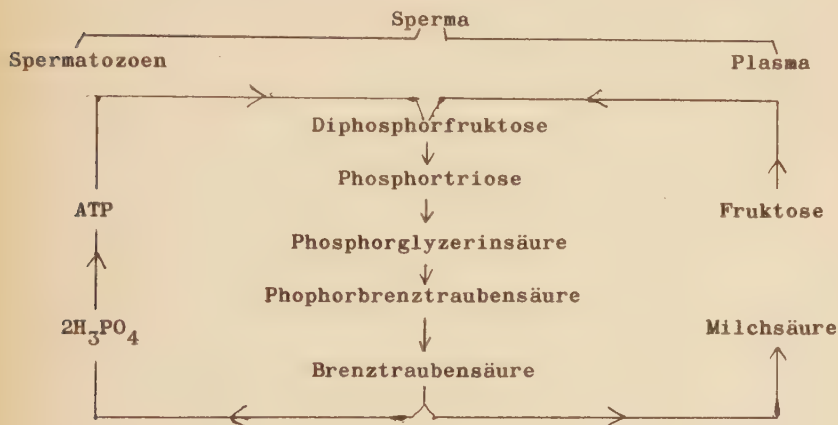
Die Spermien sind mit einem komplizierten Transportapparat ausgerüstet, der mit einem eigenen energieliefernden System ausgestattet ist. Neben einer geringen Menge von Glukose liefern die Bläschendrüsen unter dem Einfluß von androgenen Hormonen d-Fruktose, die offenbar das physiologische Energiesubstrat für die große Eigenbeweglichkeit der Spermatozoen darstellt. Da die Spermien selbst nur über geringe Reserven an energieliefernden Stoffen verfügen, sind die im Samenplasma vorhandenen Zucker für die Befruchtungsvorgänge von größter Bedeutung. Der glykolytische Abbauvorgang der Fruktose die normalerweise im Sperma vorhanden ist, und zwar in einer durchschnittlichen Menge von 200 - 700 mg pro ccm, hängt von der Bewegungsintensität der Spermien ab, und ist an der  $\text{CO}_2$ -Produktion meßbar (BAYER). Die normale Spermienzahl von 60 - 500 Millionen kann mit der vorhandenen Fruktosemenge für ca. 18 Stunden mit kinetischer Energie versorgt werden.

## Abbau der Fruktose:

Der Abbau der Fruktose setzt einen normalen Fermentapparat voraus. EICHENBERGER, sowie KÜHN zeigten, daß pathologisch veränderte Spermien auch bei reichlichem Fruktoseangebot bald bewegungslos werden. Normale Spermien sollen dagegen durch Fruktosezusatz ganz erheblich länger lebend und bewegungsaktiv erhalten bleiben. Da auch der Cervicalschleim Glukose und Fruktose enthält, wird vermutet, daß die Spermatozoen auch diese Zucker abbauen können. Nach GROPPER und NIKOLOWSKI scheinen die glykolytischen Prozesse beim Zuckerabbau im Sperma die oxydativen Prozesse zu überwiegen, da in erster Linie Milchsäure gebildet wird. Wie auch sonst beim Zuckerabbau im menschlichen Organismus wird die Reaktion durch die Übertragung von Phosphatgruppen auf die Zucker eingeleitet, da ja das Sperma ebenfalls Adenosintriphosphorsäure enthält. Im übrigen verläuft der glykolytische Abbau, den das Schema veranschaulicht, ganz ähnlich wie bei der Hefe. MANN nimmt an, da die Geschwindigkeit der Fruktolyse bei normal fertilen Männern bedeutend mäßiger ist als bei subfertilen, daß diese energieliefernden Vorgänge für den normalen Befruchtungsvorgang von Bedeutung sind.

Mit diesen zuckerabbauenden Systemen der Spermien soll auch der hohe Phosphatase-Gehalt des Ejakulates in Beziehung stehen. Die Phosphatasen stammen aus der Prostata, die das phosphatasereichste Organ des menschlichen Körpers ist, und dieses Ferment unter dem Einfluß der androgenen Hormone bildet. Während der Reifejahre steigt der Phosphatasegehalt dieser Drüse bis auf den 100-fachen Wert der ursprünglichen Menge an.

# Schema der Sperma-Fruktolyse (T.MANN)



## Fermentchemisches Antikonzipiens:

A. HILDEBRANDT berichtet über die Anwendung eines fermentchemischen Antikonzipiens (A-gen 53) bei 60 Frauen im Alter von 19 - 50 Jahren während insgesamt 405 Zyklen. Die Beobachtungszeit betrug dreiviertel Jahre, ohne daß es in diesem Zeitraum zu einer Konzeption gekommen wäre. Das Mittel wurde im allgemeinen während der ganzen menstruationsfreien Zeit, also unabhängig von den sogenannten fruchtbaren Tagen, oder dem auch als "fertile Phase" bezeichneten Zyklusabschnitt, ante cohabitationem vaginal angewandt. Bei einem Großteil der Frauen erfolgte die Anwendung auch während der fertilen Phase, die durch Basaltemperaturkontrolle sichergestellt war.

Der Wirkungsmechanismus dieses Antikonzipiens auf fermentchemischer Grundlage soll vor allem in der Blockierung zweier Fermentsysteme durch einen Zelluloseschwefelsäureester bestehen, der in einer Menge von 100 mg in einem relativ kleinen, zungenförmigen Suppositorium von 2,5 g enthalten ist. Experimentell soll es sich gezeigt haben, daß durch den Zelluloseschwefelsäureester des Antikonzipiens die Fruktolyse verhindert, und der Energiestoffwechsel der Spermien völlig lahm gelegt wird, wodurch die Spermien ihre Beweglichkeit einbüßen und in kurzer Zeit völlig inaktiv werden.

den. Außerdem soll die im Spermienkopf und Samenplasma vorhandene Hyaluronidase an der Entfaltung ihrer Wirksamkeit verhindert werden.

## NUKLEINSÄUREN UND ANDERE BAUSTEINE DER SPERMATOZOEN

### Analyse der Nukleoproteine

FELIX, zit KIMMIG, suspendiert Fischspermatozoen in destilliertes Wasser. Dabei quillt der Plasmaleib auf und löst sich quantitativ vom Kern ab. Das Verhältnis von Stickstoff zu Phosphor in den Kernen erweist sich dabei als sehr konstant.  $N:P = 3,55 : 3,46$  und  $P: \text{Arginin} = 1 : 0,947$ . Daß das Verhältnis von Stickstoff zu Arginin nicht  $1:1$  ist, hängt davon ab, daß nicht jeder Phosphorsäurerest der Nucleinsäuren durch Arginin neutralisiert ist. Einzelne Phosphorsäurereste können durch Aminosäuren an den Enden der Peptidketten (Prolin) neutralisiert sein.

Die Kerne lösen sich in einer 10%igen NaCl-Lösung zu einer hochviskösen Masse ohne Rückstände auf. Durch Umlösen in destilliertem Wasser ist eine weitere Reinigung möglich. Im Waschwasser kann kein weiterer Stickstoff nachgewiesen werden. Demnach werden keine wasserlöslichen Eiweißkörper herausgelöst.

Exakte Analysen der Fasermassen ergeben, daß diese ausschließlich aus Protaminen und Desoxyribonukleinsäure aufgebaut sind. Lipide können im Kern höchstens in Spuren enthalten sein. Demnach finden sich dort also nur Nukleoproteine. Die Überschlagsrechnung aus Kernzahl und Phosphorgehalt ergibt pro Kern einen Nucleinsäuregehalt von  $5,5 \times 10^{-6} \text{g}$ . Die Spermatozoen von Tieren, welche nur den halben Chromosomensatz besitzen, enthalten pro Kern nur  $3,3 \times 10^{-6}$  Nukleinsäure. Diese Ergebnisse stehen nach FELIX in schärfstem Widerspruch zu den Untersuchungen von STEDMANN, zit. KIMMIG, nach denen die Kerne nicht nur Protamin und Nukleinsäuren enthalten, sondern auch Chromosomin (ein Protein). FELIX, zit. KIMMIG, ist der Ansicht, daß die Anwesenheit von Chromosomin wahr-

scheinlich auf Verunreinigung durch Zytoplasma beruht. Nach MIRSKY und REIS, zit. KIMMIG, besteht der Kern aus Protamin, Nukleinsäuren und einem Tryptophan-haltigem Protein, das Reis als Residualchromosom bezeichnet. Auch hier nimmt FELIX an, daß es sich um Eiweiß aus dem Zytoplasma handelt. Zystin, Tyrosin und Tryptophan konnten von FELIX in den reinen Kernen nie aufgefunden werden. Er weist darauf hin, daß die Verhältnisse in den Kernen der Spermatozoen nicht mit denen der Gewebszellen verglichen werden können, da sie einen weit komplizierteren Aufbau aufweisen, entsprechend ihrer vielgestaltigen Funktion.

FISCHER hat aus frischem Hahnensperma die Kerne mit 1%iger Zitronensäure isoliert und ein typisches Protamin erhalten, das er Gallin nennt. Daneben findet er ebenfalls depolymerisierte Desoxyribonukleinsäure in partikelfreiem Filtrat. Die genauere Analyse dieses Protamins ergibt einen Gehalt an Arginin von 70 %, an Stickstoff von 26,6 %, an Arginin-Stickstoff vom Gesamtstickstoff 88 %, der übrige Aminoreststickstoffgehalt beträgt 12 %. Außer Arginin enthält Gallin noch folgende Aminosäuren: Glykokoll, Serin, Alanin, Threonin, Vallin, Prolin, Isoleuzin und Glutaminsäure. Aus seinen Untersuchungen zieht er den Schluß, daß der Zellkern aus Nucleoprotamin besteht.

#### Nachweis der Desoxyribonucleinsäure

ZAMENHOF, SHETTLES und CARGAFF haben Spermatozoen mit 0,1m Natriumzitrat von  $p_H$  7,5 im Verhältnis 5 : 1 gemischt, anschließend in 0,14m NaCl ausgewaschen und dann mit kristallisiertem Trypsin versetzt. Nach Alkoholzusatz sind die Desoxyribonucleotide ausgefallen. Durch Lösen in NaCl und Enteiweißung nach SAVAY, zit. ZAMENHOF, Alkoholfällung, Lösen in destilliertem Wasser, Dialyse und Gefriertrocknung können sie weitgehend gereinigt werden. Die so erhaltenen Desoxyribonucleinsäuren enthalten 16% N, 8,9% P und weniger als 2% Nucleoproteide.

C. und R. LEUCHTENBERGER, C. und R. VENDRELY benützen die mikro-spektro-photometrische Methode zur quantitativen Bestimmung der Desoxyribonucleinsäure in den Spermien. Bereits 1936 analysier-

te CASPERSSON mit Hilfe der ultravioletten mikroskopischen Spektrophotometrie die chemischen Komponenten einzelner Zellen und Zellbestandteile in situ. Diese Methode ist insofern unzureichend, als sie nicht auf sämtliche biologischen Stoffe anwendbar ist. Eine weitere Schwierigkeit liegt in der Inhomogenität des Materials, die auch durch Tiefkühlen und Trocknen nicht ganz gelöst ist. Die Ergebnisse der mikrospektrophotometrischen Methode stimmen mit den chemischen Nachweisen am gleichen Material quantitativ und qualitativ überein.

Entsprechend der obengenannten Methode wird der Desoxyribonucleinsäuregehalt des einzelnen Zellkernes nach folgender Formel errechnet:

$$\text{DNS} = \frac{A \times E \text{ mg}}{\beta}$$

A = Größe des Kernes

E = Auslöschung

$\beta$  = 20

Nach LEUCHTENBERGER stimmt dies überein mit der errechneten Standardlösung der Desoxyribonucleinsäure von 1 mg pro ccm auf 1 cm Fläche. Die Kerngröße wird mit dem Planimeter auf der vergrößerten Photographie gemessen.

#### Desoxyribonucleinsäure - Gehalt u. Fertilität

LEUCHTENBERGER, SCHRADER, WEIR und GENTILE haben den Gehalt der Spermatozoen an Desoxyribonucleinsäure in Beziehung zur Fertilität betrachtet. Es ist ihnen eine sehr einheitliche Verteilung des Desoxyribonucleinsäuregehaltes pro Spermatozoon mit einer Schwankungsbreite von nicht mehr als 9% aufgefallen. Demgegenüber bleiben die Ergebnisse klinischer Untersuchungen (Zahl, Motilität und Morphologie) der Spermien bei allen untersuchten Männern trotz nachgewiesener Fertilität von großer Unregelmäßigkeit. (Siehe Tabelle 1 und 2). Der durchschnittliche Gehalt an Desoxyribonucleinsäure des normal fertilen Spermatozoon soll  $1,22 \pm 0,005$  betragen.

Bei Verdacht auf Unfruchtbarkeit zeigten sich ihnen im allgemeinen deutlich erniedrigte Werte der Desoxyribonucleinsäurekon-

zentration pro Spermatozoon (siehe Tabelle 3 und 4). Aus diesem Grunde glauben die oben angeführten Verfasser an die Möglichkeit einer Beziehung zwischen Desoxyribonucleinsäuregehalt und Fertilität.

Tabelle 1

Mikrospektrophotometrisch gemessener DNS - Gehalt bei gesichert fertilem Sperma und histologisch morphologische Ergebnisse von 21 Fällen nach C. LEUCHTENBERGER et alteri. DNS-Gehalt in  $10^{-6}$ .

| Fälle<br>Nr. | Spermien<br>Zahl | Beweglichkeit | Morphologie |        | DNS-Gehalt |
|--------------|------------------|---------------|-------------|--------|------------|
|              |                  |               | norm.       | abnorm |            |
| 1            | 17 M.            | 60 %          | 70 %        | 30 %   | 1.29 ± .01 |
| 2            | 24 M.            | 90 %          | 87 %        | 13 %   | 1.24 ± .01 |
| 3            | 28 M.            | 70 %          | 73 %        | 27 %   | 1.21 ± .03 |
| 4            | 30 M.            | 90 %          | 73 %        | 27 %   | 1.23 ± .01 |
| 5            | 33 M.            | 80 %          |             |        | 1.20 ± .02 |
| 6            | 45 M.            | 80 %          | 85 %        | 15 %   | 1.22 ± .02 |
| 7            | 46 M.            | 50 %          | 79 %        | 21 %   | 1.24 ± .02 |
| 8            | 48 M.            | 60 %          |             |        | 1.22 ± .02 |
| 9            | 54 M.            | 80 %          | 70 %        | 30 %   | 1.23 ± .02 |
| 10           | 69 M.            | 60 %          | 75 %        | 25 %   | 1.30 ± .01 |
| 11           | 84 M.            | 40 %          | 55 %        | 45 %   | 1.18 ± .02 |
| 12           | 133 M.           | 70 %          | 62 %        | 38 %   | 1.25 ± .01 |
| 13           | 176 M.           | 90 %          |             |        | 1.18 ± .01 |
| 14           | 127 M.           | 70 %          | 62 %        | 38 %   | 1.19 ± .02 |
| 15           | 88 M.            | 80 %          | 71 %        | 29 %   | 1.19 ± .01 |
| 16           | 67 M.            | 80 %          | 75 %        | 25 %   | 1.20 ± .02 |
| 17           | 6 M.             | 60 %          | 60 %        | 40 %   | 1.25 ± .02 |
| 18           | 186 M.           | 95 %          | 74 %        | 26 %   | 1.21 ± .02 |
| 19           | 83 M.            | 85 %          | 62 %        | 38 %   | 1.25 ± .02 |
| 20           | 111 M.           | 80 %          | 83 %        | 17 %   | 1.20 ± .02 |
| 21           | 20 M.            | 80 %          | 59 %        | 41 %   | 1.24 ± .03 |

Tabelle 2

Die Versuchsanordnung ist die gleiche wie bei Tabelle 1. Das Untersuchungsmaterial stammt von den ersten 8 Fällen, die bereits in Tabelle 1 angeführt sind, nur daß es zu einem anderen Zeitpunkt gewonnen wurde.

| Fälle<br>Nr. | Entnahme-<br>datum | Spermien-<br>zahl | Beweglichk. | Morphologie |        | DNS-Gehalt  |
|--------------|--------------------|-------------------|-------------|-------------|--------|-------------|
|              |                    |                   |             | norm.       | abnorm |             |
| 1            | 10.12.52           | 127 M.            | 70 %        | 62 %        | 38 %   | 1.13 ± .016 |
|              | 7. 1.53            | 48 M.             | 80 %        | 68 %        | 32 %   | 1.25 ± .016 |
| 2            | 10.12.53           | 170 M.            | 95 %        | 76 %        | 24 %   | 1.15 ± .015 |
|              | 5. 1.52            | 88 M.             | 80 %        | 71 %        | 29 %   | 1.23 ± .014 |
| 3            | 29.12.52           | 67 M.             | 80 %        | 75 %        | 25 %   | 1.14 ± .012 |
|              | 5. 1.53            | 123 M.            | 90 %        | 75 %        | 25 %   | 1.26 ± .018 |
| 4            | 15.12.52           | 5 M.              | 50 %        | 50 %        | 50 %   | 1.27 ± .001 |
|              | 12. 1.53           | 6 M.              | 60 %        | 60 %        | 40 %   | 1.21 ± .019 |
|              | 11. 2.53           | 8 M.              | 70 %        | 60 %        | 40 %   | 1.28 ± .023 |
| 5            | 14. 1.53           | 186 M.            | 95 %        | 74 %        | 26 %   | 1.20 ± .016 |
|              | 27. 1.53           | 160 M.            | 95 %        | 70 %        | 30 %   | 1.23 ± .022 |
| 6            | 28. 1.53           | 83 M.             | 85 %        | 62 %        | 38 %   | 1.28 ± .025 |
|              | 12. 2.53           | 84 M.             | 60 %        | 65 %        | 35 %   | 1.22 ± .019 |
| 7            | 19.12.52           | 111 M.            | 80 %        | 83 %        | 17 %   | 1.20 ± .023 |
| 8            | 29.12.52           | 20 M.             | 80 %        | 59 %        | 41 %   | 1.24 ± .030 |

Es zeigt sich, daß bei ein und demselben Individuum trotz nachgewiesener Fertilität die Zahl der Spermien, die Beweglichkeit und ihre Morphologie starken Schwankungen unterworfen ist, während die Differenz des DNS-Gehaltes der Spermatozoen der einzelnen Ejakulate nur geringfügig ist.

Vergleicht man nun die Untersuchungsergebnisse der einzelnen Fälle untereinander, so treten die Verhältnisse noch deutlicher zu Tage. Im Gegensatz zu den großen Unterschieden der Spermienzahl, der Beweglichkeit und der Morphologie des fertilen Spermas der einzelnen Männer zeigt sich der DNS-Gehalt in ihren Spermatozoen ziemlich konstant. Er schwankt zwischen 1,18-1,30. Das heißt, daß in den extremsten Fällen die Schwankungsbreite des DNS-Gehaltes 9 % beträgt.

Tabelle 3  
(LEUCHTENBERGER)

Hier sind die Untersuchungsergebnisse von sicher fertilem Sperma und infertil verdächtigen Ejakulaten einander gegenübergestellt. Die DNS wurde nach der mikrospektrophotometrischen Methode bestimmt.

| Sicher fertil |             |         |                | Verdacht auf Infertilität |             |         |
|---------------|-------------|---------|----------------|---------------------------|-------------|---------|
| Fall Nr.      | Sperm. Zahl | Bewegl. | DNS-Gehalt     | DNS-Gehalt                | Sperm. Zahl | Bewegl. |
| 1             | 17M         | 60%     | 1.29 $\pm$ .02 | 1.17 $\pm$ .02            | 7M          | 30%     |
| 2             | 24M         | 90%     | 1.24 $\pm$ .01 | 0.97 $\pm$ .01            | 8M          | 70%     |
| 3             | 28M         | 70%     | 1.21 $\pm$ .03 | 1.08 $\pm$ .03            | 12M         | 50%     |
| 4             | 30M         | 90%     | 1.23 $\pm$ .01 | 1.10 $\pm$ .02            | 15M         | 70%     |
| 5             | 33M         | 80%     | 1.20 $\pm$ .02 | 0.91 $\pm$ .01            | 12M         | 70%     |
| 6             | 45M         | 80%     | 1.22 $\pm$ .02 | 1.15 $\pm$ .02            | 18M         | 10%     |
| 7             | 46M         | 50%     | 1.24 $\pm$ .02 | 1.18 $\pm$ .02            | 21M         | 50%     |
| 8             | 45M         | 60%     | 1.22 $\pm$ .02 | 0.89 $\pm$ .01            | 24M         | 80%     |
| 9             | 54M         | 80%     | 1.23 $\pm$ .02 | 1.08 $\pm$ .02            | 56M         | 80%     |
| 10            | 69M         | 60%     | 1.30 $\pm$ .01 | 1.12 $\pm$ .01            | 58M         | 90%     |
| 11            | 84M         | 40%     | 1.18 $\pm$ .02 | 1.02 $\pm$ .02            | 72M         | 85%     |
| 12            | 133M        | 70%     | 1.23 $\pm$ .01 | 1.14 $\pm$ .01            | 78M         | 60%     |
| 13            | 176M        | 90%     | 1.18 $\pm$ .01 | 0.76 $\pm$ .01            | 78M         | 80%     |

Es zeigt sich auch bei diesen Resultaten, die in Tabelle 3 wiedergegeben sind, daß die Untersuchungen auf Spermienzahl, Morphologie und Motilität, sowohl bei gesicherter Fertilität als auch bei Infertilitätsverdacht stark variieren. Dagegen ist der DNS-Gehalt des fertilen Spermas ziemlich konstant und weist nur mäßige Differenzen auf. Bei Verdacht auf Infertilität zeigt jedoch auch der DNS-Gehalt der Spermatozoen stärkere Schwankungen. Außerdem sind die DNS-Werte gegenüber den sicher fertilen Spermien deutlich erniedrigt.

Noch deutlicher sichtbar werden diese Verhältnisse bei Untersuchungen an sicher infertilen Patienten.

Tabelle 4  
(LEUCHTENBERGER et al.)

Es sind hier die Untersuchungsergebnisse von 7 Fällen einer gesicherten Infertilität dargestellt. Die Versuchsanordnung ist die gleiche, wie bei den vorherigen Darstellungen.

| Fall<br>Nr. | Samen<br>flüssig.<br>in ccm | Sperm.<br>Zahl | Bewegl. | Morpholog. |         | DNS-Gehalt |
|-------------|-----------------------------|----------------|---------|------------|---------|------------|
|             |                             |                |         | norm.      | abnorm. |            |
| 1           | 2.6                         | 8M             | 70%     | 50%        | 45%     | 0.97       |
| 2           | 3.0                         | 12M            | 70%     | 69%        | 31%     | 0.91       |
| 3           | 3.8                         | 16M            | 50%     | 65%        | 35%     | 1.54       |
| 4           | 3.6                         | 24M            | 80%     | 72%        | 28%     | 0.89       |
| 5           | 4.4                         | 27M            | 50%     | 77%        | 23%     | 1.60       |
| 6           | 3.8                         | 78M            | 80%     | 71%        | 29%     | 0.76       |
| 7           | 5.2                         | 231M           | 70%     | 75%        | 25%     | 0.88       |

Diese Untersuchungsergebnisse der Ejakulate von sicher infertilen Männern, bei deren Frauen auch in eingehenden gynäkologischen Untersuchungen keine Ursache für die Sterilität zu finden war, zeigen einen deutlich erniedrigten Desoxyribonukleinsäure-Gehalt ihrer Spermatozoen gegenüber der DNS-Konzentration in einem normal fertilen Sperma.

Auch die in neuester Zeit vorgenommenen Untersuchungen von C. und R.LEUCHTENBERGER, SCHRADER und WEIR bestätigen diese Resultate, daß bei infertilem Sperma der Gehalt an DNS im Spermatozoon gegenüber der Desoxyribonukleinsäurekonzentration in normal fertilen Spermien erniedrigt ist.

Tabelle 5  
(LEUCHTENBERGER)

Tabelle 5 zeigt eine Gegenüberstellung der DNS-Konzentration in den Spermatozoen von 21 fertilen und 21 infertilen Ejakulaten.

| Fall<br>Nr. | Desoxyribonukleinsäure-Gehalt |                |
|-------------|-------------------------------|----------------|
|             | Sicher Fertil                 | Infertil       |
| 1           | 1.18 $\pm$ .01                | 0.32 $\pm$ .02 |
| 2           | 1.18 $\pm$ .02                | 0.73 $\pm$ .02 |
| 3           | 1.19 $\pm$ .01                | 0.78 $\pm$ .05 |
| 4           | 1.19 $\pm$ .02                | 0.80 $\pm$ .02 |
| 5           | 1.20 $\pm$ .02                | 0.84 $\pm$ .02 |
| 6           | 1.20 $\pm$ .02                | 0.88 $\pm$ .02 |
| 7           | 1.20 $\pm$ .02                | 0.88 $\pm$ .02 |
| 8           | 1.21 $\pm$ .02                | 0.89 $\pm$ .01 |
| 9           | 1.21 $\pm$ .03                | 0.89 $\pm$ .02 |
| 10          | 1.22 $\pm$ .02                | 0.90 $\pm$ .02 |
| 11          | 1.22 $\pm$ .02                | 0.90 $\pm$ .02 |
| 12          | 1.23 $\pm$ .01                | 0.92 $\pm$ .02 |
| 13          | 1.23 $\pm$ .02                | 0.93 $\pm$ .03 |
| 14          | 1.23 $\pm$ .01                | 0.94 $\pm$ .02 |
| 15          | 1.24 $\pm$ .01                | 0.97 $\pm$ .02 |
| 16          | 1.24 $\pm$ .02                | 0.97 $\pm$ .03 |
| 17          | 1.24 $\pm$ .03                | 1.00 $\pm$ .01 |
| 18          | 1.25 $\pm$ .02                | 1.05 $\pm$ .03 |
| 19          | 1.25 $\pm$ .02                | 1.18 $\pm$ .02 |
| 20          | 1.29 $\pm$ .01                | 1.39 $\pm$ .02 |
| 21          | 1.30 $\pm$ .01                | 1.58 $\pm$ .03 |

Auch bei diesen Untersuchungsergebnissen ist es auffallend, daß der Desoxyribonukleinsäure-Gehalt der infertilen Spermatozoen stärker variiert als die DNS-Konzentration bei fertilen Spermien. Außerdem sind die Werte der Desoxyribonukleinsäure bei unfruchtbarem Samen gegenüber dem fruchtbaren Sperma stark herabgesetzt. Dies würde die Ansicht von LEUCHTENBERGER et al. bestätigen, daß zwischen einem fertilen Sperma und der Desoxyribonukleinsäure-Konzentration seiner Spermatozoen ein gewisser Zusammenhang besteht. Aus diesem Grunde könnte man die Desoxyribonukleinsäure-Konzentrations-Bestimmung der Spermatozoen als weiteres Hilfsmittel bei der Fertilitätsdiagnostik verwenden.

## DNS-Gehalt und Arginin

VENDRELY und VENDRELY haben Untersuchungen über die Verteilung der Desoxyribonukleinsäure bei verschiedenen Fischen angestellt. Dabei findet sich zwischen der Desoxyribonukleinsäure und dem Arginin keine feste Relation, wie dies von den Verfassern in den Erythrozyten von Fischen und Hühnern festgestellt worden ist, wobei das Verhältnis DNS zu Arginin 5,0:5,4 beträgt. Ihre Untersuchungen beziehen sich auf die Spermienkerne, deren Gehalt an Arginin und DNS sie wie folgt angeben:

Gehalt an DNS und Arginin in  $10^{-6}$  g pro Spermienkern

| Art         | DNS  | Arginin |
|-------------|------|---------|
| Schleie     | 0.85 | 0.18    |
| Karpfen     | 1.60 | 0.35    |
| Forelle     | 2.45 | 1.50    |
| Hecht       | 0.85 | 0.53    |
| Stiersperma | 3.10 | 2.16    |

## Spermatozoen und Kataphorese

Als Ergebnis langjähriger Experimente am Sperma der Kaninchen findet SCHRÖDER, daß die Spermatozoen der Säugetiere verschieden, je nach der Art ihrer Geschlechtschromosomen, im elektrischen Feld wandern. Spermien mit x-Chromosomen wandern zur Anode, die mit y-Chromosomen zur Kathode. Die qualitative und die quantitative Zusammensetzung der Proteine an den verschiedenen Polen weisen große Unterschiede auf. Die Proteine der anodischen x-Spermien sollen ihren isoelektrischen Punkt bei pH-4,5 haben, die der kathodischen y-Spermien bei pH 6-7,5. Befruchtungsversuche scheinen diese Untersuchungsergebnisse weitgehend zu bestätigen.

## Überträger der Erbanlagen

Nach KIMMIG ist in den Protaminen der Überträger der Erbanlagen zu suchen. (Untersuchungen am Fisch). Die noch vorhandenen Variationsmöglichkeiten zur Erklärung der Unterschiede in den Fischarten sind trotzdem noch sehr groß. Einmal kann sich das Verhältnis der Desoxyribonukleinsäure zu den Protaminen stetig ändern, weiter kann

auch der Aufbau der Nukleinsäuren verschieden sein. Der Gehalt an Purin- und Pyrimidinbasen kann sich ebenfalls ändern.

Aus einem unreifen Hoden läßt sich kein Protamin isolieren. Beim Reifungsvorgang der Spermatozoen wird das Eiweiß umgeformt. Die für den Stoffwechsel wichtigen Aminosäuren werden eliminiert, und zwar das Tryptophan, Methionin, Phenylalanin, Tyrosin, die Asparaginsäure und die Glutaminsäure. Übrig bleiben nur die sogenannten trägen Aminosäuren. FELIX (zit. KIMMIG) ist es gelungen, mit gereinigten Spermatozoenkernen Saiblingseier zu befruchten. Aus den Eiern entwickelten sich vollkommen normale Fische. Daher ist anzunehmen, daß das Material aus dem Zytoplasma der Samenzelle bei der Befruchtung keine Verwendung findet.

## STOFFE, DIE IN DEN SPERMATOZOEN UND IM PLASMA ENTHALTEN SIND

### Proteine

Nach LANE-ROBERTS nehmen die Proteine einen dominanten Anteil der Samenflüssigkeit ein. Die verschiedenen Proteine sind im Samen fast vollständig vermischt. Beim Zentrifugieren erhält man neben den Spermatozoen und den anderen geformten Bestandteilen einen bestimmten Anteil Schleim.

Die Wirkung der Proteine soll darin bestehen, daß sie dort, wo das Sperma mit dem zervikalen Mucus in Berührung kommt, Kontaktflächen bilden, die eine Vermischung von zervikalem Schleim und der Samenflüssigkeit verhindern. Über die weitere Bedeutung dieses Vorganges ist nichts bekannt. Weiterhin wird den Proteinen infolge ihres amphoteren Charakters eine gewisse Schutzkolloidwirkung zugeschrieben.

Mittels der Elektrophorese konnten GRAY und HUGGINS (zit. LANE-ROBERTS) 4 verschiedene Proteinfraktionen nachweisen, die sich im elektrischen Feld genau so verhielten wie die Albumine und die einzelnen Globuline. Die ebenfalls auf elektrophoretischer Grundlage beruhenden Untersuchungen von KELLER und TSCHUMI ergeben 4 bis 5 verschiedene Proteinfraktionen, die fast gleiche Wandergeschwindig-

keit aufweisen. Sie entsprechen denen der Serumglobuline. Im normalen Samenplasma finden sich jedoch keine Albumine.

Diese Proteinkörper des Samens erweisen sich in der Hauptsache als Proteosen und Globuline. Nach LANE-ROBERTS soll eine Thioalbumose oder ein ihr verwandter Stoff ebenfalls vorhanden sein. ROSS MOORE und MILLER (zit. HOPPE-SEYLER) gelang es, eine hitzekoagulable Substanz zu isolieren, die sie als Proteose bezeichnen. Außerdem fanden sie ein Glykoprotein mit einem Hexosamingehalt von 10,8 %, das jedoch keine Uronsäure aufweist. DALLAM und THOMAS bestätigen die Angaben anderer Verfasser, daß im Säugetiersperma kein durch gewöhnliche Methoden extrahierbares Nukleoprotamin und Nukleohiston enthalten ist. Aus den Köpfen der Samenzellen konnten sie ein basisches Protamin, eine Nukleinsäure und ein Lipoprotein gewinnen. Das Lipoprotein läßt sich bei einem pH-Wert von 11 und weniger, das basische Protamin und die Nukleinsäure mit stärker alkalischen Lösungen extrahieren.

Fällungsversuche am Widder- und Ebersperma (THOMAS und MAYER) zeigen keinerlei Ausfällung bei 1m und 2m NaCl. Mit n NaOH erhalten sie je eine bei pH 6 und pH 4,5 fallende Proteinfraktion. Der bei einem pH-Wert von pH 6 fällbare Anteil enthält weniger als 1 % Phosphor und über 10 % Arginin; außerdem sind noch Lysin, Histidin, Prolin, Valin, Leucin oder Isoleucin, Phenylalanin, Tyrosin, Methionin, Alanin, Threonin, Serin, Glykokoll, Zystin, Glutaminsäure, Asparaginsäure und Tryptophan vorhanden. Der nach alkalischer Extraktion verbleibende Spermatozoenrest enthält viel Nukleinsäure, ferner mindestens 25 % Arginin, sowie Prolin, Valin, Leucin, Isoleucin, Phenylalanin, Alanin, Threonin, Serin, Glykokoll, Zystin, Glutaminsäure und Asparaginsäure. Jedoch fehlen Methionin, Histidin und Lysin. Das Tryptophan war auch hier mikrobiologisch nachweisbar.

Nach LANE-ROBERTS ist eine verschieden große Menge an Proteinen in jedem Ejakulat verborgen und kann durch starke Verdünnung mit Wasser sichtbar gemacht werden. Nach Abtrennung der Globuline und koagulablen Proteine erhält man eine Lösung von nicht koagulablen Proteinen. Diese Proteine sollen sich bei den entsprechenden Testen wie Proteosen verhalten, die wiederum in primäre und sekundäre Proteosen unterteilt werden können.

Eine sichere Beziehung zwischen der Fertilität und der Protein-

konzentration im Sperma läßt sich nach LANE-ROBERTS nicht feststellen. Diese Angaben werden von KELLER und TSCHUMI bestätigt. Sie konnten keinen Zusammenhang zwischen Motilität, Konzentration der Spermien und ihrer Eiweißzusammensetzung finden. In manchen Fällen von Infertilität konnte LANE-ROBERTS einen abnorm niederen Proteinspiegel feststellen. Oft läßt sich schon am Erscheinungsbild des Samens (Hydrospermie) der Proteinmangel erkennen. KELLER und TSCHUMI berichten, daß sie bei stark pathologischen Ejakulaten Proteine gesehen haben, die in ihrer elektrophoretischen Wandergeschwindigkeit den Albuminen entsprechen. Ungeklärt dabei ist, ob es sich um Albumine oder andere Proteine, eventuell um Glykoproteide handelt. Leicht pathologische Spermaproben und solche mit Azoospermie weisen keine Abweichungen von der Norm auf. Das Spermaflüssigkeitseiweiß soll aus anderen Komponenten wie das Serumeiweiß bestehen.

#### Aminosäuren

In der Zusammensetzung der Aminosäuren sind sich die Spermatozoen und das Seminalplasma sehr ähnlich. Nach v.KAULLA und SHETTLES zeigen lediglich Leucin, Tryptophan und ganz besonders das Arginin größere Unterschiede, wobei die hohen Argininwerte auf die Zusammensetzung der Protamine zurückzuführen sind. Nach ADAM und KORTING ist die Spermatozelenflüssigkeit wesentlich ärmer an freier Aminosäure als die übrige Samenflüssigkeit. LUNDQUIST nimmt an, daß die freien Aminosäuren im Samenplasma vom Spermafibrin abstammen. Als den Ursprungsort dieser Substanz gibt er die Bläschendrüsen an. Läßt man das Ejakulat in eiskalte Kaliumphosphatlösung eintropfen, so gewinnt man das Spermafibrin als kristallisierbaren Eiweißkörper. Allerdings ist darauf zu achten, daß diese Untersuchung sofort nach der Entnahme des Samens gemacht wird, denn wenn man sie erst eine halbe Stunde nach Emission des Ejakulates vornimmt, kann dieser Stoff nicht mehr nachgewiesen werden. LUNDQUIST schließt daraus, daß das Spermafibrin bis zu diesem Zeitpunkt bereits abgebaut ist. Die Untersuchungen von ADAM und KORTING ergeben jedoch, daß auch noch 4 Stunden nach der Entnahme des Ejakulates eine Zunahme der freien Aminosäuren festzustellen ist. Sie sind der Ansicht, daß aus diesem Grunde das Spermafibrin nicht der alleinige Ausgangspunkt und Ausgangsstoff für die freien Aminosäuren sein könne. In den einzelnen

Seminalplasmen fanden ADAM und KORTING eine ziemlich konstante Verteilung der Aminosäuren.

Die Ergebnisse der Untersuchungen von SARKAR et al. über die Verteilung der einzelnen Aminosäuren in den Spermien und in dem Seminalplasma gibt die folgende Tabelle wieder. Das Untersuchungsmaterial stammt vom Rind und wurde nach mikrobiologischen Methoden ausgewertet. Die Werte beziehen sich auf wasser-, asche- und fettfreies Material in % der Trockensubstanz.

| Substanz      | Sperma | Plasma |
|---------------|--------|--------|
| Arginin       | 25,47  | 7,91   |
| Histidin      | 2,54   | 2,13   |
| Lysin         | 5,08   | 4,86   |
| Tryptophan    | 1,59   | 2,63   |
| Valin         | 3,73   | 3,11   |
| Glutaminsäure | 8,33   | 7,75   |
| Phenylalanin  | 3,81   | 3,42   |
| Methionin     | 1,81   | 1,61   |
| Threonin      | 3,78   | 3,20   |
| Leucin        | 5,20   | 3,81   |
| Isoleucin     | 3,42   | 2,79   |

Aus den Ergebnissen dieser Untersuchungen geht deutlich hervor, daß die Argininkonzentration der Spermatozoen wesentlich höher liegt, der Tryptophangehalt dagegen niedriger ist als der entsprechende Wert des Seminalplasmas.

HULTIN und HERNE haben die Spermien von verschiedenen mollusken und echinoderemen Arten auf ihren Gehalt an basischen Proteinen untersucht und konnten dabei feststellen, daß die Spermatozoen der Echinoderemen einen auffallend hohen Gehalt an Lysin aufweisen, während die Mollusken ziemlich große Werte an Arginin zeigen.

Der freie Aminosäuregehalt des Spermas soll nach ADAM und KORTING in keiner Beziehung zur Spermienzahl und zur Fruktosekonzentration des Ejakulates stehen. Eine Fertilitätsaussage auf Grund der Bestimmung von freien Aminosäuren im Samen ist nicht möglich.

Übersicht über die von verschiedenen Verfassern im Sperma gefundenen  
Aminosäuren

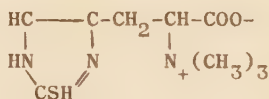
| Aminosäuren    | ADAM u.<br>KORTING | LUNDQUIST | JACOBSON | SARKAR<br>et al. | v.KAULLA u.<br>SHETTLES |
|----------------|--------------------|-----------|----------|------------------|-------------------------|
| Leucin         | +                  | +         | +        | +                | +                       |
| Isoleucin      | +                  | +         | +        | +                | +                       |
| Valin          | +                  | -         | +        | +                | +                       |
| Tyrosin        | +                  | +         | -        | -                | -                       |
| Alanin         | +                  | +         | +        | -                | -                       |
| Glutaminsäure  | +                  | +         | +        | +                | +                       |
| Threonin       | +                  | +         | +        | +                | +                       |
| Glykokoll      | +                  | -         | +        | -                | -                       |
| Serin          | +                  | +         | +        | -                | -                       |
| Aspariginsäure | +                  | +         | +        | -                | -                       |
| Arginin        | +                  | +         | +        | +                | +                       |
| Histidin       | +                  | -         | -        | +                | +                       |
| Tryptophan     | +                  | -         | -        | +                | +                       |
| Tyrosin        | +                  | -         | +        | -                | -                       |
| Phenylalanin   | -                  | +         | +        | +                | +                       |
| Prolin         | -                  | +         | -        | -                | -                       |
| Lysin          | -                  | -         | +        | +                | +                       |
| Cystin         | -                  | +         | -        | -                | -                       |
| Methionin      | -                  | -         | -        | +                | +                       |
|                | Mensch             | Mensch    | Mensch   | Rind             | Rind                    |

SH-Gruppen und schwefelhaltige Aminosäuren

Nach MacLEOD hemmen 30 Gamma Kupfer pro ccm Spermasuspension die Glykolyse und die Motilität der Spermatozoen. Diese Hemmwirkung des Kupfers läßt sich aufheben bzw. verhindern, wenn man eine Stunde zuvor der Suspension bis zu m/100 von Cystein oder Glutathion beigibt. Das Glutathion entfaltet diese Wirkung unter aeroben und anaeroben Bedingungen, während das Cystein bei aeroben Verhältnissen keinen schützenden Effekt aufweist und sogar toxisch wirkt. Die Fruktolyse und die Beweglichkeit der Spermien werden auch durch m/100 Tetrathionat gehemmt, sowohl bei aerobem als auch bei anaerobem Milieu. Die Kombination von Cystein und Tetrathionat soll auf

die Spermatozoen stark schädigend wirken. Offenbar hat diese toxische Wirkung ihre Ursache in der Bildung von Cystin, da Thiosulfat und die Kombination Cystein-Thiosulfat keine schädigende Einflüsse aufweisen. Nach DAVIS, WILLIAM und Mc CUNE steigern Sulfhydrylgruppen in geringer Konzentration die Atmung der Spermatozoen, während größere Mengen davon die Oxydationsprozesse in dem Sperma hemmen oder ganz blockieren.

Zystin, Zystein, Methionin und Ergothionin kommen nach ZITTLE in den Spermatozoen vor. Die Konzentration des Zystins und des Methionins beträgt in dem Spermienkopf 1,00 und in dem Spermien-schwanz 4,87. Nach KIMMIG sind die schwefelhaltigen Aminosäuren in der Plasmahaut der Spermatozoenköpfe lokalisiert. Es ist nicht ausgeschlossen, daß die Membran der Spermienköpfe eine keratinähnliche Struktur aufweist, zumal sich diese Schutzhaut leicht in Thioglykolsäure auflösen läßt. MANN wies in der Samenflüssigkeit vom Eber ein eigenartiges Derivat des Histidins, das Trimethylbetain des Thiohistidins (Ergothionin) mit folgender Strukturformel nach:



Dieser Stoff wird aus dem Sekret der Bläschendrüsen des Ebers gewonnen. Er übt eine gewisse Schutzwirkung auf die Spermatozoen gegenüber den Inaktivatoren der Sulfhydrylgruppen aus. Außerdem hebt dieses Derivat ebenfalls die hemmende Wirkung von  $\text{Cu}^{++}$ -Ionen und  $\text{H}_2\text{O}_2$  gegenüber den Spermatozoen auf. Eine Proportionalität zwischen der Reduktionskraft des Bläschendrüsenliquors und dem Gehalt an Ergothionin wurde von T.MANN festgestellt. Freies Thiohistidin ist dagegen nicht gefunden worden.

Die Verteilung des Methionin und Zystin in den Bullenspermatozoen weist folgende Werte auf (ZITTLE und O'DELL):

| Lokalisation | Methionin | Zystin | Gesamtschwefel |
|--------------|-----------|--------|----------------|
| Insgesamt    | 1,92 %    | 3,8 %  | 1,6 %          |
| Kopf         | 1,01 %    | 4,1 %  | 1,6 %          |
| Mittelstück  | 2,25 %    | 4,5 %  | 1,8 %          |
| Schwanz      | 3,40 %    | 2,4 %  | 1,5 %          |

## Adenosintriphosphorsäure

T.MANN, zit. HOPPE-SEYLER, hat die Adenosintriphosphorsäure aus Widdersperma isoliert. Er findet dabei Werte von 0,5 bis 1,5 mg %. Dieser Nukleosidgehalt des Spermas steht in gewisser Abhängigkeit von der Brunstzeit der Tiere, da die höchsten Werte im Dezember, dem Höhepunkt der Springzeit, festzustellen sind, die niedrigsten Werte dagegen im April, am Ende der Springzeit. Der Gehalt an ATP-Amino-N beträgt 0,4 mg %. Der Anteil des  $\text{NH}_2$ -Stickstoffes in den Spermatozoen ist 3,45 mg %, der des Spermaliquors 0,45 mg %. In der Fähigkeit mit Actomyosin zu reagieren, gleicht die Adenosintriphosphorsäure des Spermas der ATP im Muskel. Im Gegensatz zu dieser vermag sie unter anaeroben Bedingungen bewegungslos gewordenen Spermien wieder Motilität zu verleihen.

## Metalle

An Metallen findet man im Sperma Eisen, Zink und Kupfer. Nach PETERSON besitzt das menschliche Ejakulat einen Kupfergehalt, der doppelt so hoch ist wie die Kupferkonzentration im Speichel.

|             |              |
|-------------|--------------|
| Im Speichel | 2-10 Gamma % |
| Im Sperma   | 6-24 Gamma % |

Noch höher als im menschlichen Sperma ist die Kupferkonzentration in der Samenflüssigkeit des Schafbocks.

Eisen, Zink und Kupfergehalt im Sperma vom Schafbock nach SHETTLES, zit. HOPPE-SEYLER, in mg/100 ccm.

| Stoff  | Spermien | Plasma |
|--------|----------|--------|
| Eisen  | 0,68     | 0.16   |
| Zink   | 0.70     | 0.28   |
| Kupfer | 0.12     | 0.05   |

MAWSON und FISCHER haben bei 5 gesunden Spendern das Ejakulat in 3 Partien aufgefangen und es auf seinen Zinkgehalt untersucht. Sie finden dabei, daß die erste Fraktion die höchste Zinkkonzentration aufweist. Nach ihnen soll im menschlichen Sperma das Zink in höherer Konzentration vorhanden sein als in allen anderen Organen des Körpers.

Durchschnittlicher Zinkgehalt verschiedener Organe in Gamma/g  
Trockengewicht

|          |      |
|----------|------|
| Sperma   | 1998 |
| Prostata | 859  |
| Leber    | 245  |
| Niere    | 186  |
| Muskel   | 226  |
| Hoden    | 162  |
| Pankreas | 135  |
| Herz     | 100  |
| Milz     | 100  |
| Lunge    | 67   |
| Gehirn   | 43   |

Der Gehalt der einzelnen Fraktionen in mg/Trockengewicht an Zink

|                          |      |
|--------------------------|------|
| 1.                       | 2.93 |
| 2.                       | 1.40 |
| 3.                       | 0.91 |
| Im zentrifugierten Samen | 1.99 |

Als besonders reich an Zink zeigt sich das Gewebe der Prostata.

Durchschnittlicher Zn-Gehalt der Prostata in Gamma/g Trockengewicht

| Prostata         | Gamma/g  | Mittel |
|------------------|----------|--------|
| gesund           | 898-1265 | 859    |
| bei Hypertrophie | 268-1806 | 722    |
| bei Carcinom     | 65- 999  | 199    |

Das im Samenplasma vorhandene Zink liegt meist in dialysabler Form vor. Die Kohlensäureanhydrase, deren prosthetisches Metall das Zink ist, liegt nur in einer zu vernachlässigenden Menge im Sperma vor. Etwa 0,05 % des Zinkgehaltes kann hierfür gerechnet werden. I.G.WHITE hat Spuren von Kupfer, Zink und Eisen auf den mit Fruktosephosphat verdünnten Samen von Widder, Bullen, Kaninchen und Menschen einwirken lassen. Er gibt an, daß lediglich Kupfer die Motilität der Widderspermatozoen etwas senke, sonst sei aber keine nennenswerte Wirkung an den Spermatozoen zu beobachten gewesen.

## Inosit

Nach MANN befindet sich in der Samenflüssigkeit vom Eber eine kristalline Substanz, die sich als Inosit erweist.

Aus einem Liter Samenflüssigkeit lassen sich 18 g Inosit gewinnen. Das Trockengewicht von 1 Liter Sperma beträgt 150 g; demnach sind davon also 40 % freies Inosit. Die Konzentration dieses Stoffes ist in keinem Gewebe und keiner Pflanze so hoch. Als Funktion nimmt man die eines lipotropen Wachstumsfaktors an, der Vitamincharakter besitzt. Der Eber soll aus denselben akzessorischen Drüsen Inosit sezernieren, aus denen auch die Fruktose und die Zitronensäure stammen. Nach KIMMIG enthält der Spermaliquor des Menschen ebenfalls Inosit. KIMMIG und SCHIRREN finden Werte zwischen 114 Gamma/Mol und 2088 Gamma/Mol im Ejakulat. Einen Zusammenhang zwischen der Höhe der Inositwerte und einer Normo-, Oligo- und Aspermie konnten sie nicht finden. Nach den Untersuchungen von WHITE ist Inosit ohne jeglichen Einfluß auf die Motilität verdünnter Spermatozoen vom Widder, Bulle, Kaninchen und Menschen. Nach KIMMIG und SCHIRREN besteht eine gewisse Beziehung zwischen dem Fruktosegehalt und dem Inositspiegel im Zusammenhang mit der Testosteronproduktion der Leydigzellen.

## Heptakosan

WAGNER-JAUREGG hat im alkohollöslichen Teil des Seminalplasmas einen Kohlenwasserstoff gefunden, der sich als das Heptakosan ( $C_{27}H_{56}$ ) erwies. In 18 Litern Sperma findet sich etwa 1 g dieses Stoffes. Da er nur schwer in Alkohol löslich ist, nimmt der Verfasser an, daß noch weit mehr davon vorhanden sein dürfte. Über den Ursprung und die Funktion des im Sperma vorhandenen Heptakosans ist bis jetzt noch nichts bekannt.

## Zitronensäure

Im Jahre 1929 hat SCHERSTEIN, zit. KIMMIG, die Anwesenheit von Zitronensäure im Samen entdeckt. Aber erst 1945 ist von BARRON und HUGGINS, zit. KIMMIG, der Beweis erbracht worden, daß beim Menschen die Zitronensäure hauptsächlich in der Prostata gebildet wird. Die Zitronensäure des Bullen, des Schafbocks, des Ebers und anderer

Säugetiere befindet sich in den Bläschendrüssen. Manche Säuger scheinen überhaupt keine Zitronensäure im Sperma zu produzieren. Nach HUMPHREY und MANN, zit. HOPPE-SEYLER, findet sich im Hundesperma weder Zitronensäure noch Fruktose. Im Fischsperma dagegen läßt sich Fruktose nachweisen, aber wiederum keine Zitronensäure.

Der Gehalt an Zitronensäure von verschiedenen Species ist zum Teil sehr unterschiedlich. Eine Übersicht gibt die Tabelle von LUNDQUIST (entnommen aus HOPPE-SEYLER).

Zitronensäure- und Fruktosegehalt der Spermien verschiedener Gattungen in mg% nach LUNDQUIST

| Species   | Zitronensäure | Fruktose |
|-----------|---------------|----------|
| Stier     | 510-1100      | 700-1000 |
| Widder    | 110- 260      | 300- 500 |
| Kaninchen | 110- 550      | ca.500   |
| Eber      | 130           | 9        |
| Hengst    | 55            | -        |
| Hund      | -             | -        |
| Mensch    | 500           | 350      |

HUMPHREY und MANN, zit. KIMMIG, weisen darauf hin, daß die Zitronensäurekonzentration in der Prostata in enger Beziehung zum Testosteron steht. Das Hormon scheint die Produktion von Zitronensäure zu stimulieren. Nach MANN und PARSON ist eine Bestätigung hierfür dadurch gegeben, daß nach Kastration der Zitronensäuregehalt beträchtlich abfällt. Dieselbe Erscheinung tritt nach Hypophysektomie auf. Durch Testosteron läßt sich die Produktion der Zitronensäure wieder in Gang setzen. Allerdings ist im letzteren Falle außerdem eine zusätzliche Gabe von gonadotropem Hormon erforderlich. Der Zusammenhang zwischen dem Hormon- und dem Zitronensäuregehalt ist so eng, daß man die Zitronensäurebestimmung als Test für die Funktion der Leydigischen Zellen benutzen kann.

Nach KIMMIG läßt sich die Zitronensäure leicht aus dem Sperma auswaschen. Er ist der Ansicht, daß die Zitronensäure keinen Einfluß auf die Fruktolyse ausübt und ebensowenig könne sie die Atmung der Spermatozoen aufrecht erhalten.

LARDEY und PHYLLIPS sind der Meinung, daß die Spermatozoen die Fermentsysteme des Trikarbonsäurezyklus enthalten, und daß aus diesem Grunde die Zitronensäure in ihrem Stoffwechsel intermedial auf-trete.

Die Zitronensäure wird mit der Motilität und der Gerinnung ebenso wie der Verflüssigung des Spermas in Zusammenhang gebracht. Außerdem soll sie die Hyaluronidaseaktivität steigern und an der Bildung von Ca-Ionen in der Samenflüssigkeit beteiligt sein.

Die Zitronensäure im Sperma und in den Sekreten der akzessorischen Sexualdrüsen nach VALLEE und GIBSON aus HOPPE-SEYLER

| Species         | Sperma        | Nebenhoden      | Bläschendrüse   | Prostata        |
|-----------------|---------------|-----------------|-----------------|-----------------|
| Mensch          | 5.0 $\pm$ 2.5 | -               | -               | 7.00 $\pm$ 0.7  |
| Eber            | -             | 0.15 $\pm$ 0.1  | 8.2 $\pm$ 0.22  | 0.54 $\pm$ 0.13 |
| Stier           | -             | -               | 10.6 $\pm$ 0.94 | -               |
| Kaninchen       | -             | 0.59 $\pm$ 0.04 | 6.33 $\pm$ 0.61 | 1.34 $\pm$ 0.23 |
| Meerschweinchen | -             | 0.1             | 3.28 $\pm$ 0.16 | 3.55 $\pm$ 0.54 |

## Harnstoff

Nach HUGGINS und JOHNSON ist der Harnstoffgehalt in der normalen Samenflüssigkeit annähernd doppelt so hoch wie im Blute. Die Analyse der Proben, die den Bläschendrüsen direkt entnommen werden, schließen die Annahme, daß die hohe Harnstoffkonzentration im Sperma durch Verunreinigungen mit Urin verursacht sein könnten, aus.

Bei Fällen von vermindelter Fertilität ist Harnstoff in äußerst hohen Mengen im Spermaliquor gefunden worden. In einigen Spermaausstrichen sind harnstoffähnliche Kristalle in großer Anzahl gesehen worden.

## Fette, Fettsäuren und Lipoide

WAGNER-JAUREGG findet bei seinen Untersuchungen über das Hep-takosan unter anderem auch Stearin- und Palmitinsäure im menschlichen Sperma. IVERSEN zieht es stark in Erwägung, ob der Lipoidgehalt eines Ejakulates nicht für dessen Trübung verantwortlich ist. Bei erwachsenen Männern soll der Lipoidgehalt des Spermas 4.63 mg

pro ccm betragen, während bei Adoleszenten, deren Prostataflüssigkeit noch wässrig ist, sich eine Lipoidkonzentration von 1.83 mg pro ccm findet. Eine Beziehung zwischen der sauren Phosphatase und dem Lipidgehalt des Samens konnte nicht festgestellt werden.

### Spermin und Spermidin

Nach HOPPE-SEYLER findet sich Spermin und Spermidin als Analogon zu dem aus Ornithin entstehenden Putrescin im Sperma. KIMMIG sind die Aminosäuren, aus denen diese Stoffe bestehen, nicht bekannt. Wahrscheinlich wird das Spermin zur Aufrechterhaltung der Wasserstoffionenkonzentration mit herangezogen. Es ist nicht bekannt, ob das Spermin einen Einfluß auf die Umwandlung des Proteineiweißes bzw. auf die Verschiebung der Nukleinsäuren in den Spermatozoen ausübt oder nicht. In den Samenkörpern und deren Vorstufen konnte es nicht nachgewiesen werden. Es ist nicht ausgeschlossen, daß die Ruhigstellung der Spermatozoen in den Nebenhoden durch Spermin erreicht wird. Über die wirkliche Bedeutung des Spermin und des Spermidin ist nichts bekannt. Im Sperma ist es in einer Menge von ca. 160 mg% vorhanden. HARRISON, zit. HOPPE-SEYLER, gibt die Sperminphosphatkristalle mit einer Länge von 0.25-2 mm an.

PONTHUS und HUSSON haben 1933 die Fluoreszenzspektren von alten Spermaflecken untersucht. Sie fanden eine intensiv bläuliche Fluoreszenz, die um so stärker hervortrat, je älter die Flecken waren. Das Fluoreszenzspektrum erstreckt sich kontinuierlich von 4000-4900 Å mit einem Maximum bei 4200 Å. Die Zunahme der Intensität bei alten Proben, soll ihre Ursache in den längeren Wellen haben. Sie nehmen nun an, daß diese Erscheinung auf die Oxydation des Spermin zurückzuführen ist, wobei 1-,3-,Aminopropan entsteht, das nur  $\text{CH}_2$ - und  $\text{NH}_2$ -Gruppen enthält, sogenannte auxoflore und bathoflore Gruppen. Dies wäre eine weitere Möglichkeit zum Nachweis von Sperma mit Hilfe des Spermin.

### Plasmalogen

Seit der Entdeckung und Ermittlung der Konstitutionsformel des Plasmalogens durch FEULGEN und Mitarbeiter im Jahre 1951, zit. VOIT, ist eine große Zahl von Arbeiten über den Nachweis von Acetalphosphatiden in den verschiedenen Gewebearten erschienen. Trotzdem ist ihre biochemische Bedeutung bis jetzt noch nicht geklärt.

Nach VOIT und SECKFORT hat das Plasmal, dessen Vorstufe das Plasmalogen ist, Aldehydcharakter. Es gehört zu den Monoaminophosphatiden, von denen es sich dadurch unterscheidet, daß es die Fettsäuren nicht in ester- sondern in aldehydartiger Bindung enthält. Die Plasmalogene sind in der Tierwelt und in dem Pflanzenreich weit verbreitet.

BOGUTH findet bei seinen Untersuchungen, daß im Sperma eine relativ große Menge an Plasmalogen vorhanden ist. Zum Beispiel enthält Stiersperma 0.3-0.9 mg/ccm Plasmalogen im Ejakulat. Unterschiede in der Rassezugehörigkeit der Tiere haben keinen Einfluß auf die Höhe des Plasmalogenspiegels im Sperma. Der Quotient aus der Spermatozoenzahl und der Plasmalogenkonzentration erweist sich als ziemlich konstant. Das Spermatozoenplasma enthält  $\frac{1}{3}$  des Gesamtplasmalogens des Samens.

In pathologischen Fällen kann der Plasmalogengehalt des Spermas erniedrigt sein. (Siehe auch Tabelle nach BOGUTH)

#### Zwei Bullen gleicher Rasse

|                             | gesund                | Trichimoniasis mit krankhaft<br>verändertem Sperma |
|-----------------------------|-----------------------|----------------------------------------------------|
| Plasmalogen in 1 ccm Sperma | 0.59mg                | 0.21mg                                             |
| Plasmalogen in den Spermien | 0.37mg                | 0.09mg                                             |
| Plasmalogen im Plasma       | 0,22mg                | 0.12mg                                             |
| Sp.-Konz. Mill./ccm         | 1.21                  | 1.35                                               |
| Volumenanteil der Sperm.    | 10%                   | 12%                                                |
| Plasmalog. der einz.Sperm.  | $3.1 \times 10^{-10}$ | $0.7 \times 10^{-10}$                              |

#### Spermalysin

Spermalysin wird als einer der Befruchtungsstoffe genannt. BOREI, CARLSTRÖM, HANNSON und LUNDQUIST konnten diesen Stoff aus Seeigelspermien gewinnen. Er soll noch in weit stärkeren Verdünnungen als Leucotaxin hämolysierend wirken. Allerdings weist das Spermalysin nicht den großen Einfluß des Leucotaxins auf die Kapillarpermeabilität auf.

## Spermatolysin

Das Spermalysin ist nicht zu verwechseln mit dem von YILDRIAN beschriebenen Spermatolysin, das als abnorme Substanz im Samen vorkommen kann. Es soll für das Absterben sonst normaler Spermatozoen verantwortlich sein. Somit könnte es eine Ursache für die männliche Infertilität darstellen. Der Ursprungsort des Spermatolysin ist die Prostata.

## Phosphorverbindungen

Die normale Samenflüssigkeit enthält Phosphorverbindungen in ziemlich großer Anzahl, zum Teil in organischer Form zum Teil als anorganische Verbindung. In der Hauptsache entstammen die Phosphate den Bläschendrüssen. Über die Sperminphosphate, die sich immer nachweisen lassen, ist nur wenig bekannt.

Nach HUGGINS und JOHNSON läßt sich in der Spermatocelenflüssigkeit, die mittels Punktion gewonnen wird, keine Phosphorsäure nachweisen. Reichlich finden sich die Phosphate neben Calcium in den Bläschendrüssen, wogegen die Chloride dort fast vollständig fehlen. Im Sekret der Prostata soll die Phosphorsäure in der gleichen Konzentration wie im Blute vorhanden sein.

Nach LUNDQUIST liegt die Hauptmenge der schnell spaltbaren Phosphate des Spermas in Form des Cholinphosphates vor. Trennt man bei einem Ejakulat, das einen Tag alt ist, das Cholin ab, so erhält man durchschnittliche Werte von 172-398 mg% Cholinchlorid. Nur ein kleiner Teil besteht aus Argininchlorid.

Diese hohen Werte, die durch die enzymatische Hydrolyse von Phosphorylcholin durch die Prostataphosphatase noch wesentlich erhöht werden, haben LUNDQUIST veranlaßt, die Konzentration von Glycerinphosphoryl, Phosphorylcholin und Cholin in den Bläschendrüssen und in der Prostata von Ratten, Meerschweinchen und Kaninchen zu bestimmen. Dabei zeigt sich, daß bei allen drei Tierarten das Glycerinphosphoryl die höchste Konzentration aufweist und daß es vorwiegend in den Bläschendrüssen gebildet wird. Dadurch erscheint es als wahrscheinlich, daß das Glycerophosphorylcholin die Vorstufe des freien Cholins im menschlichen Samen ist. Die Bildung dieser Substanz scheint unter hormonaler Kontrolle zu stehen, da zwei Monate nach Kastration die Werte auf etwa 5% des Normalgehaltes absinken.

## FERMENTE

### Phosphatase

Im Jahre 1941 haben GUTMANN und GUTMANN im Samen eine Phosphatase entdeckt. Bei 43 Ejakulaten von 10 gesunden Männern fanden sie Phosphatasewerte zwischen  $700 \pm 150$  und  $3700 \pm 500$  Einheiten. Die Fermentmenge war bei ein und demselben Individuum ziemlich konstant. Dieses Enzym entstammt der Prostata, worauf auch sein Erscheinen in den ersten beiden Fraktionen des Ejakulats hinweist. Nach KIMMIG liegt das ph-Optimum der Phosphatase bei einem ph-Wert von 5-6. Dieses Enzym spaltet  $\alpha$ - und  $\beta$ -Glycerinphosphorsäure. Seine Wirkung auf die diphosphorilierten Hexosen und das Pyrophosphat ist nur gering. Magnesiumsalze werden durch das Ferment stark aktiviert. Von der Adenosintriphosphorsäure wird die gesamte Phosphorsäure durch die Prostataphosphatase abgespalten. Ihre Aktivität übertrifft diejenige der alkalischen Serumphosphatase um 3-4 Zehnerpotenzen.

LUNDQUIST wies nach, daß frischer menschlicher Samen Cholinphosphorsäure enthält, die aber sofort durch die Prostataphosphatase aufgespalten wird. Die Cholinphosphorsäure befindet sich normalerweise in den Bläschendrüsen und kommt erst während der Ejakulation mit der Prostataphosphatase in Berührung. LUNDQUIST hält diese Aufspaltung für eine der wichtigsten Aufgaben dieses Enzyms.

Das menschliche Sperma enthält kurz nach der Ejakulation 10 mg% anorganischer Phosphatase, deren Werte innerhalb von 20 Minuten auf 64 mg% ansteigen. Der Gehalt an organischem Phosphor sinkt dementsprechend ab. Nach KIMMIG und T.MANN ist die vermutliche Quelle der Cholinphosphorsäure bei dem Lecithin zu suchen. Die Prostataphosphatase scheint ein magnesiumhaltiges Proteid darzustellen. Normalerweise tritt sie nicht in das Serum über. Der Phosphatasegehalt der Prostata übertrifft den aller anderen Organe bei weitem. Mit der Pubertät verhundertfacht er sich.

Phosphatasegehalt in der Prostata: (Documenta Geigy 1953)  
(in Armstrongeinheiten)

---

|           |          |
|-----------|----------|
| Geburt    | 4,5      |
| 4 Jahre   | 1,5      |
| 13 Jahre  | 73       |
| Erwachsen | 522-2284 |

---

HEPPEL und HILMOE berichten von drei verschiedenen Enzymen, die sie aus dem Sperma von Bullen isoliert haben.

1. Das erste Ferment führt die Hydrolyse von Adenosintriphosphorsäure zu anorganischem Pyrophosphat und Adenosin-5-phosphat durch. Sein ph-Optimum liegt bei Werten von ph 8,4 - 9. Durch Erhitzen über 30 Minuten kann es nicht inaktiviert werden. Calcium und Magnesium haben keinen aktivierenden Einfluß auf das Enzym.
2. Als zweites finden sie eine saure Phosphatase, welche die Bildung von Orthophosphat aus Adenosintriphosphorsäure katalysiert. Diese saure Phosphatase ist hitzeempfindlich und wird durch Magnesium aktiviert, während Calcium hemmend wirkt. Der optimale ph-Wert liegt bei ph 5,6 - 6.
3. Das dritte Ferment ist eine alkalische Phosphatase, die Orthophosphat abspaltet. Das ph-Optimum liegt bei ph 8,4 - 8,8. Es ist hitzestabil und kann durch Calcium und Magnesium schwach aktiviert werden.

RAID, WORD und SULZBURG untersuchten das Verhalten der Prostataphosphatase von Bullen unter verschiedenen Bedingungen. Sie stellten fest, daß der Gehalt an saurer Phosphatase im Sperma nach einer geschlechtlichen Ruheperiode von 52 Tagen keine Änderung erfährt. Die alkalische Phosphatase dagegen steigt um das 2,2fache an. Sie unterzogen innerhalb von 16 Tagen einen Bullen einer neunmaligen Massage; dabei sind die Werte seiner alkalischen Phosphatase auf 5,4 Einheiten in 100 ccm Samenplasma gesunken. Man findet eine Herabsetzung des alkalischen Phosphatasegehaltes auch bei großer Spermienzahl, einem großen Volumen und bei häufigen Ejaku-

lationen, wobei die genannte Reihenfolge einer immer niedriger werdenden Korrelation entspricht. Eine Beeinflussung der sauren Phosphatase konnten sie bei diesen Untersuchungen nicht feststellen. Der Gehalt des Plasmas an Calcium und Phosphor, wie auch das Alter der Tiere bleiben ohne Wirkung. Durch ein konzentriertes Kraftfutter, das reich an Vitaminen und Mineralsalzen war, ließ sich der Spiegel von beiden Phosphatasen anheben und steigern. Die Menge der sauren Phosphatase steht in Beziehung zur Spermienkonzentration. Das führt sie zu dem Schluß, daß diese Phosphatase nicht unbedingt in der Prostata gebildet werden müsse, sondern auch von den Spermatozoen, oder aber zumindest von ihnen adsorbiert und transportiert werden könne. Eine Bestätigung ihrer Ansicht finden sie in der Tatsache, daß in wiederholt aufeinanderfolgenden Ejakulaten die Konzentration der sauren Phosphatase abnimmt.

Nach KAISER sind die Phosphatasen an den Stoffwechselvorgängen in den Zellen des Ejakulates beteiligt, da sich sowohl die Motilität der Spermatozoen als auch die Phosphatasen-Aktivität durch Magnesium steigern läßt.

Ausgehend von der Annahme, daß biologisch sehr aktive Zellen auch eine größere Fermentaktivität besitzen müßten, untersucht er die Phosphatasewirkung bei den einzelnen Stadien der Spermiogenese. Den Phosphatasenachweis führte er direkt an den Zellen aus, und zwar nach der histochemischen Methode von GOMORI. Dabei findet er eine höhere Phosphataseaktivität bei den Zellen der Spermiogenese gegenüber den reifen Spermatozoen. Innerhalb der verschiedenen Zellformen der Spermiogenese läßt sich analog zu ihrer Ausreifung ein gewisser Unterschied in der Fermentwirkung feststellen. Aus diesem Grund kommt er zu der Annahme, daß in der alkalischen Phosphataseaktivität ein Kriterium für die Entwicklungsstadien der Zellen der Spermiogenese gefunden sei. Außerdem könne die Phosphataseaktivitätsbestimmung zur besseren Beurteilung der Wirkung von Keimdrüsenhormonen herangezogen werden, da ja bei ihrer Anwendung im Falle von Infertilität die Ausreifung der Spermatozoen erfolgt.

Die Abnahme der alkalischen Phosphatase in den Zellen mit der Zunahme ihres Reifungsgrades könnte man nach KAISER vielleicht dadurch erklären, daß zur Ausreifung der Gonaden Phosphorylierungs- und Dephosphorylierungsprozesse erforderlich sind.

LANE-ROBERTS ist der Ansicht, daß ein zu niedriger Phosphatase-Gehalt im Sperma zu Fertilitätsstörungen führen kann. Nach NIKO-LOWSKI sollen bei einer Azoospermie nur mittlere Phosphatasewerte vorkommen, und zwar zwischen 80 und 320 Einheiten. Mikroformen im Spermogramm gehen mit niederen Phosphatasewerten einher, während die Makroformen auf einen hohen Phosphatasegehalt hinweisen. DELORY konnte in seinen Untersuchungen keinen Zusammenhang zwischen der Oligospermie, mangelnder Motilität und saurer Phosphatase finden. Auch GUTMANN und GUTMANN sahen bei 24 Männern mit gesicherter Infertilität keine Abweichungen in den Phosphatasewerten. KIMMIG gibt an, daß es bei dem Prostata-Ca zu einer vermehrten Bildung der Phosphatase kommt, die zu einem Übertritt des Fermentes in das Blutserum führen kann.

Zwischen androgener Aktivität und Phosphataspiegel scheinen einige Beziehungen zu bestehen. Unter Verabreichung von Testosteron steigt der Phosphataspiegel beträchtlich an. Beim Erlöschen der innersekretorischen Hodenfunktion kommt es nicht nur zur Atrophie der Prostata, sondern diese verliert auch ihre Fähigkeit zur Phosphatasebildung.

#### 5-Nucleotidase

HEPPEL und HILMOE berichten von einem Ferment in der Samenflüssigkeit des Stieres, das Ribose-5-Phosphat und seine Ester 4000 mal schneller spaltet als Ribose-3-Phosphatverbindungen. REIS (zitiert KIMMIG), fand diese 5-Nucleotidase im Sperma des Menschen. Ihr Entstehungsort sind die Bläschendrüsen. Nach HEPPEL beträgt ihr ph-Optimum 8,5. Die relative Aktivität dieses Fermentes beträgt für Adenosin-5-Phosphat 100; für Inosin-5-Phosphat 113 und für Uridin-5-Phosphat 0,8. Nach KIMMIG sollen die Spermatozoen auch noch nach mehrmaliger Auswaschung eine beträchtliche Menge an Adenosintriphosphorsäurephosphatase enthalten.

Eine Desoxyribonuclease wurde von ZAMENHOF, SHETTLES und CARGAFF im Sperma gefunden.

### Hyaluronidase

#### Allgemeines:

Schon 1912 wurde von LONG (zitiert JOEL), beobachtet, daß der Cumulus oophorus sich auflöst, wenn man eine Suspension von lebenden Spermatozoen hinzufügt. Außerdem fiel ihm auf, daß die Eier von den Follikelzellen entblöst werden, welche sich im Cumulus befinden. Die Annahme, daß es sich hierbei um die Wirkung von lebenden Spermien handeln könnte, wurde von YAMANE, PINCUS und ENZMANN widerlegt, da sie dieselbe Wirkung mit Spermatozoen-Filtrate erzielten, welche durch Erwärmen auf 40 - 45° abgetötet waren. Die Beobachtung, daß auch Trypsin zur Auflösung des Cumulus oophorus geeignet ist, führte zu der Annahme, daß es sich wohl um ein proteolytisches Ferment der Spermatozoen handelt. Doch ist es beachtenswert, daß die proteolytischen Fermente nicht nur den Schleimklumpen des Cumulus oophorus angreifen, sondern auch die Follikelzellen der Corona radiata und sogar das Ei selber, während mit den Spermaextrakten nur eine Auflösung des Cumulus oophorus stattfindet, ohne daß die Corona radiata oder das Ei einen Schaden erleiden.

Der erste Versuch, die Coronarzellablösung vom Ei, ehe die Konzeption stattfindet zu klären, wurde 1930 von dem Japaner YAMANE unternommen. Beim Kaninchen erfolgt der Follikelsprung im Anschluß an die Kopulation. YAMANE sterilisierte nun einen Teil seiner Kaninchenböcke durch Vasektomie und untersuchte nach infertiler und fertiler Paarung die aus dem Eileiter herausgespülten Eier. Er stellte dabei fest, daß die Eier nach fertiler Kopulation, also bei Vorhandensein von Spermatozoen, wesentlich früher von Coronarzellen frei wurden, als die Eier von Weibchen, die mit infertilen Böcken gepaart worden waren. Zu der Zeit, wo die Corona unbefruchteter Eier eben zu zerfallen begann, waren die befruchteten Eier bereits im Zwei-Zellstadium und vollkommen nackt. Dieselben Ergebnisse erhielt er auch bei den Befruchtungsversuchen in vitro. Die zellablösende Substanz wurde von ihm nicht als artspezifisch betrachtet und da die gleichen Ergebnisse auch

mit Pankreatin erzielt wurden, glaubte YAMANE an eine proteolytische Fermentwirkung.

1935 stellten PINCUS und ENZMANN bei ihren Untersuchungen bereits eine Abhängigkeit der Wirkung von der Spermienzahl fest. Sie fanden, daß für die Zellablösung von Kanincheneiern eine Mindestkonzentration von 20 000 Spermien pro cmm nötig ist. Die Möglichkeit, daß die Coronarzellablösung auf eine proteolytische Fermentwirkung zurückzuführen sei, wurde von MC CLEAN und ROWLANDS als nicht zutreffend abgelehnt, da durch Proteasen auch die Zellen und die Eier selbst angegriffen werden. Durch Einlegen von frischen Ratten-Eiern in hyaluronidasehaltige Extrakte von verschiedener Herkunft gelang es ihnen zu zeigen, daß eine weitgehende Parallelität zwischen der Konzentration des Fermentes und der Zeit bis zum Zerfall der Corona radiata besteht. Die Fermentwirkung wurde an der Viskositätsabnahme eines Hyaluronsäuresubstrates gemessen. Die Wirkung beschränkte sich nur auf die Verflüssigung der gelatinösen Zwischenzellsubstanz, Zellen und Eier wurden dabei nicht angegriffen.

WALLENFELS gelang es ein speziell mucinspaltendes Ferment, die Hyaluronidase in den Säugetierspermatozoen nachzuweisen, das sich dadurch auszeichnet, daß es verschiedenen Schleime mesenchymalen Ursprungs, wie Synovialflüssigkeit, den Glaskörper des Auges, das Nabelschnurmucin u.a. unter starker Viskositätssenkung zu hydrolisieren vermag. Bei Versuchen am Cumulus oophorus zeigte es sich, daß er ebenso wie andere mesenchymale Mucine augenblicklich unter Freilegung des Eies verflüssigt wird. Der Cumulus ist also ein Hyaluronsäuregel und das ihn lösende Enzym, welches in den Spermatozoen enthalten ist, die Hyaluronidase. Auch andere, als "spreading factors" bekannte Hyaluronidase-Präparate aus Bakterien oder Schneckengiften gewonnen, zeigten die gleiche Wirkung auf den Cumulus oophorus. Zum Unterschied von den Versuchen mit proteolytischen Fermenten lösten sich durch die Einwirkung der Hyaluronidase keine Follikelzellen auf und auch die Corona radiata blieb erhalten.

Vorkommen:

Als Mucinasen bewirken die Fermentkomplexe Hydrolyse der hyaluronsäure-haltigen Mucine unter Viskositätsabnahme und dem

Auftreten von reduzierenden Substanzen. An ihren Eigenschaften als "spreading factors" lassen sie sich leicht erkennen. Werden sie nämlich intradermal injiziert, so beschleunigen sie die Ausbreitung von Farbstoffen, Bakterien, Viren und Toxinen in der Haut, und bewirken somit verstärkte Läsionen am Ort ihrer Wirkung.

Entsprechend der Verbreitung und Bedeutung der hyaluronsäurehaltigen Mucine kommt die Hyaluronidase überall dort vor, wo eine Zustandsänderung dieser Substrate aufgetreten ist oder erreicht werden soll: z.B. in Bakterien und in Giften von Insekten oder gewissen Schlangen. Ferner kommen Hyaluronidasen bei malignen menschlichen und tierischen Tumoren vor, allerdings ohne generelle Beziehung zum histologischen Typ oder dem Entwicklungsstadium. Allgemein kann man sagen: Hyaluronidase kommt überall dort vor, wo es gilt im Gewebe den normalen Zellverband zu zerstören.

Im tierischen Organismus sind "spreading factors" in gesunder und entzündeter Haut sehr weit verbreitet. In geringen Mengen kommen sie in den Wänden des Verdauungstraktes und des Harntraktes vor. Außerdem sind sie in Gallenblasen mit pathologischem Befund, in der Milz, der Lunge, dem Ovar, der Placenta, dem Hirn, in Niere und Leber, in Hypophysenpräparaten (stärker in denen vom Hinterlappen), in Schilddrüsenextrakten, im Harn und in dem Rachen- und Bindegewebe zu finden. Im Blutserum ist wegen der Anwesenheit von Inhibitoren ein Vorkommen der Hyaluronidase nicht sehr wahrscheinlich. Im Synovial- und Periartikulargewebe konnte keine Hyaluronidase nachgewiesen werden. Ihre Verteilung bei fetalen und ausgewachsenen Meerschweinchen zeigte keine großen Unterschiede. Es ist nicht absolut sicher, daß sich diese Beobachtungen alle nur auf Hyaluronidase beziehen, da es auch "spreading factors" gibt, die keine mucolytische Wirksamkeit besitzen, also keine Hyaluronidase sind.

Vorkommen von Hyaluronidase und Cumulus oopherus bei verschiedenen Species nach WALLENFELS:

| Species   | Hyal.-Gehalt<br>der Spermien | Cumulus    |
|-----------|------------------------------|------------|
| Rind      | sehr hoch                    | sehr klein |
| Opossum   | kein                         | kein       |
| Kaninchen | sehr hoch                    | sehr hoch  |
| Pferd     | niedrig                      | kein       |
| Hund      | niedrig oder kein            | sehr hoch  |
| Schaf     | hoch                         | kein       |
| Hühner    | kein                         | kein       |
| Reptilien | kein                         | kein       |
| Seeigel   | kein                         | kein       |
| Mensch    | ziemlich niedrig             | groß       |

Das an Hyaluronidase reichste Organ ist der Hoden von Säugtieren und Menschen. Sie fehlt bei Vögeln, Reptilien und Amphibien. Nach WALLENFELS gehört die Hyaluronidase nicht zu den sog. Fertilisinen, bzw. Gamonen. Er hält sie für eine relativ junge Errungenschaft im Evolutionsprozeß, die erst mit dem Übergang vom Leben in dem Wasser zum Leben auf dem Lande auftritt.

Die Hyaluronidase eines Ejakulates stammt nicht aus irgendwelchen Begleitdrüsen, sondern aus dem Keimepithel des Hodens (HECHTER und HADIDIAN). Dies ergibt sich aus der Abhängigkeit des Fermentes von dem Entwicklungsstadium des Keimepithels (SWYER), der positiven Beeinflussbarkeit durch Testosteronpropionat (RIISFELDT) und der Unterdrückung bei künstlichem Kryptorchismus oder Hypophysektomie (LEONHARD und PERLMAN). Der Höchstgehalt an Hyaluronidase wird schon beim Auftreten von Spermatozyten im Hoden, der Vorstufe der Spermatozoen erreicht. Alloxandibetes ist ohne Einfluß auf den Hyaluronidasespiegel bei Ratten (MOORE). JOEL und EICHENBERGER berichten, daß der Gesamtgehalt an Hyaluronidase im

Sperma mit der Zahl der Spermatozoen parallel geht und unabhängig von der Morphologie und der Beweglichkeit der Spermien ist.

Die Spermatozoen enthalten die Hyaluronidase offenbar in einem von der Spermiogenese her vorgebildeten Zustand. Sie produzieren sie also nicht selbst. Ein Teil davon diffundiert in das umgebende Plasma des Samens (RIZATTI). Eine von MONROY und RUFFO gefundene Mucinase im Seeigelsperma dürfte wohl keine Hyaluronidase sein.

Meist schwächer wirksam als Testeshyaluronidase und auch solche aus Blutegeln sind die Hyaluronidasen bakterieller Herkunft (K.MEYER u. CHAFFEE). Ihre häufige Labilität oder die geringe Quantität erschweren die Auffindung des Fermentes manchmal sehr. Nach DAVISON, DEROW und WALKER treten sie intra- und extrazellulär auf. Letzteres besonders, wenn es sich um Mucoiden, kapselbildende Stämme handelt, z.B. verschiedene A-Streptokokken. Die Hyaluronidasebildung in vitro bei den Bakterien steht nicht in direkter Beziehung zu ihrem Typ oder ihrer Gruppenzugehörigkeit. Oft variiert sie bei demselben Stamm ziemlich stark (RUSSEL u. SHERWOOD). Im allgemeinen besteht keine Korrelation zur Pathogenität, Virulenz und Wuchsform (AUSTONI), (mucoid oder nichtmucoid, mit oder ohne Kapsel).

McCLEAN gelang es durch Hyaluronsäurezusatz zu den Kulturen einiger Erysipelstämme die Hyaluronidaseproduktion zu erhöhen, bzw. Hyaluronidase bildende Mutanten zu züchten. Das gleiche gelang PIKE durch Zusatz von inhibitorhaltigem Serum. Über das Vorkommen des Fermentes bei verschiedenen Pneumokokken-, Staphylokokken-, Streptokokken- und Klostridiumarten berichten PIKE und PRADHAM.

#### Stoffwechsel:

Der Flüssigkeitsaustausch und die Diffusion der Stoffwechselprodukte zwischen den Zellen und durch die Gefäßwände sind abhängig von dem Zustand des Körpergewebes. Diese werden also von dem wechselnden Polymerisationsgrad reguliert und somit auch die Viskosität der zwischen den Zellen liegenden und diese verkittende Grundsubstanz, die reich an Hyaluronsäure ist. Diese Grundsubstanz

bildet zugleich einen Wasserspeicher, so daß also auch der Wassergehalt des Gewebes und der hyaluronsäurereichen Körperflüssigkeit durch die Hyaluronidase beeinflußt werden kann.

Wenn auch über die synthetische Leistung der Hyaluronidase bisher nichts bekannt geworden ist, so spricht das verbreitete Vorkommen des Fermentes im Gewebe doch für eine Beteiligung am Abbau wie auch am Aufbau der Grundsubstanz. (Im Prinzip kann jedes Ferment als Biokatalysator einen Vorgang in beide Richtungen beschleunigen). Diese Vorgänge sollen zum größten Teil hormonal gesteuert werden. Unter dem Einfluß der Keimdrüsenhormone soll nicht nur die Hyaluronidaseproduktion der Hoden ansteigen, sondern auch die Hyaluronsäure sehr reichlich enthaltenden Organe der sekundären Geschlechtsmerkmale, wie z.B. der Hahnenkamm (BOAS) und die Geschlechtshaut der Affen vergrößern sich. Nach KUSCHE stehen die übrigen Gewebehyaluronidasen auch unter dem Einfluß der Schilddrüse. Übergeordnet dürfte wohl die Hypophyse sein. Zum Teil wirkt die bei der Ejakulation freigewordene Hyaluronidase auch als Antagonist des durch den Orgasmus verstärkt ausgeschütteten Thyroxins.

Vitamine sollen ebenfalls in den Mucopolysaccharidstoffwechsel eingreifen. Nervöse Steuerungsmöglichkeiten sind auch in Betracht zu ziehen. Sie sollen unter der Wirkung der Erregung bei der Kohabitation aktivierend auf die Hyaluronidase wirken (KOSH-TOYANTS).

#### Chemische Wirkung:

Nach DORFMANN besteht die chemische Wirkungsweise der Hyaluronidase in einem stufenweisen hydrolytischen Abbau der Mucopolysaccharide.

1. Zunächst erfolgt die Aufspaltung von Anhydrid-Bindungen. Diese ist von einem ersten Viskositätsabfall begleitet und dem Verlust der Fähigkeit, mit Serumalbumin beim Ansäuern ein Gerinnsel zu bilden.
2. Die weitere Hydrolyse zu immer noch Polymeren, noch nicht dialysablen Produkten ist vom Verschwinden der Viskosität begleitet (HAHN). Beim Ansäuern mit Albumin tritt auch jetzt noch

keine Trübung ein.

3. Die nächste Stufe ist die Aufspaltung zu niederen Oligosacchariden, wahrscheinlich einem Disaccharid, das aus je einem Molekül Acetylhexosamin und Glukuronsäure besteht. Dieser Vorgang ist mit dem Auftreten von reduzierenden Substanzen verbunden, die allerdings erst in Erscheinung treten bei ca. 60 % der theoretisch möglichen Menge.

4. Die letzte Stufe ist die Aufspaltung zu Monosacchariden.

5. Soweit Schwefelsäure in dem Molekül gebunden war, kann auch diese zu irgend einem Zeitpunkt noch abgespalten werden. (Chondroitinschwefelsäure, Hyaluronschwefelsäure der Cornea).

Am schnellsten verlaufen die Vorgänge 1 und 2 (Minuten bis wenige Stunden). 3 und 4 setzen danach ein. Nach MC CLEAN und HALE hat man es im Prinzip mit der Wirkung mindestens einer Depolymerase (1 und 2), einer Mucopolysaccharase (3), einer Mucopoligosaccharase (4) und einer Sulfatase (5) zu tun. Ob es sich tatsächlich um ein Gemisch all dieser Fermente handelt oder ob einige prosthetische Gruppen auf einem Träger vereinigt sind, läßt sich nicht sagen. Eine Trennung in Co- und Apofermente ist bisher nicht beschrieben worden.

Im Zusammenhang mit dieser Wirkungsspezifität steht auch die Substratspezifität. Nicht alle Hyaluronidasen verschiedener Herkunft haben den gleichen Wirksamkeitsbereich (MEYER, CHAFFEE, HOBBY u. DAWSON). Während rohe Testeshyaluronidase sowohl Hyaluronsäure und deren Schwefelsäureester als auch Chondroitinschwefelsäure abzubauen vermag, wirkt Pneumokokkenhyaluronidase nur auf Hyaluronsäure und Hyaluronschwefelsäure. Streptokokkenhyaluronidase schließlich vermag nur noch Hyaluronsäure anzugreifen (BUNTING).

Nach ROGERS sind in den Hyaluronidasen verschiedener Herkunft die einzelnen Wirkgruppen in verschiedenem Ausmaß vertreten. Hiermit hängen auch die Unterschiede der pH-Wirkungsoptima zusammen: Für Testeshyaluronidase ist der pH-Wert ca. 4,5, für bakterielle schwankt er zwischen pH 5,4 und 7,0. Daß die Testeshyaluronidase

noch ein Nebenoptimum bei einem pH-Wert von ca. 6 hat, deutet darauf hin, daß es sich um einen Komplex von wenigstens 2 Fermenten handelt. Nach HUMPHREY ist die Reaktionsbreite bei den verschiedenen Hyaluronidasen zum Teil sehr unterschiedlich. Die mucooligosaccharatische Wirkung wird beim gewöhnlichen Reinigungsverfahren völlig abgetrennt. Der Abbau der Hyaluronsäure bleibt dann mit solchen Fermentpräparaten auf der Disaccharidstufe stehen (HAHN). Aber auch hochgereinigte Testeshyaluronidasepräparate sind elektrophoretisch bis jetzt noch nicht einheitlich darzustellen. Stets wirken sie auch noch viskositäts-senkend und disaccharidbildend.

Wie für Fermente allgemein üblich ist auch die Wirkung der Hyaluronidase stark von der Temperatur (ihr Optimum liegt zwischen 30 und 40°), dem pH-Wert und dem Milieu abhängig (WERLE u. Mitarbeiter). Bei dem Milieu sollen die Salzkonzentrationen und die Anwesenheit von Aktivatoren und Inhibitoren eine große Rolle spielen. Für rohe, nicht inhibitorfreie Hyaluronidase ist die Bindung ihrer Wirksamkeit an eine optimale Salzkonzentration charakteristisch, die nicht wesentlich überschritten werden darf. Dies könnte vielleicht eine gewisse Bedeutung für die physiologische Steuerung der Hyaluronidase im Organismus haben.

#### Aktivatoren und Inhibitoren:

Die Hyaluronidasewirkung wird wesentlich vom Milieu beeinflusst. Neben der Ionenkonzentration spielt die Anwesenheit von beschleunigenden oder hemmenden Faktoren eine ausschlaggebende Rolle. Spezifische Aktivatoren sind bis jetzt noch nicht bekannt. Anscheinend üben Ca-Ionen eine gewisse günstige Wirkung aus. Nach LURIE und ZAPPASODI sollen mit luteinisierendem Hormon vorbehandelte Kaninchen einen verstärkten Spreading-Effekt zeigen. Bei Permeabilitätsversuchen an Membranen wirkt Desoxycorticosteronacetat (Cortiron) besonders stark durchlässigkeitserhöhend, ohne durch eine gleichzeitige Hyaluronidasegabe verstärkt zu werden (SEIFTER).

Als Inhibitoren, deren Zusammensetzung bekannt ist, wirken zahlreiche Phenole, die allerdings in ihrer Wirksamkeit von der

Zahl ihrer OH-Gruppen und der Länge ihrer Seitenketten abhängig sind (CALESNICK u. BEUTNER). (Z.B. wirkt 0,1 % Hexylresorcin 300 mal so stark wie 10 % Salicylat.) Auch eine im Harn erscheinende Salicyl-Gentisinsäureverbindung soll hemmend wirken (RAGAN u. MEYER). Ferner wird dem Chinon der Gentisinsäure als mögliches Stoffwechselprodukt der Salicylsäure eine gewisse Hemmwirkung zugeschrieben (LINN u. OZMENT). Im allgemeinen scheint es so, daß nur saure Polysaccharide Hemmstoffe darstellen können (MEYER). Verschiedene Antikoagulantien üben ebenfalls eine inhibitorische Wirkung aus. Die von den Sterinen bewirkten Hemmungen deuten auf die Möglichkeit einer hormonellen Steuerung der Permeabilitätsvorgänge hin. Im Viskositätstest sind Cholesterin, Progesteron, Oestron, Testosteron nahezu unterschiedslos, Cortison etwas stärker noch in extremen Verdünnungen wesentlich aktivitätsmindernd. Ebenfalls stark hemmend wirken Extrakte der Nebennierenrinde bei Permeabilitätsversuchen an Harnblasen- und Synovialmembranen. Nicht nur hemmend, sondern die Richtung sogar umkehrend wirken die Sterine mit weiblicher Hormonwirkung (Oestron, Equilin und Equilenin).

Dies wirft ein Licht auf die Beobachtungen, nach denen sowohl die Infektionsbereitschaft wie auch die Ausbreitung von Farbstoffen in der Haut von Sexualhormonen beeinflusst werden. (Zyklus, Schwangerschaft). Umgekehrt soll vor der Pubertät die Infektionsbereitschaft größer sein (DURAN-REYNALS, BUNTING u. WAGENEN). Nach HADIDIAN und PIRIE wird die Tatsache, daß ein großer Überschuß an Hyaluronsäure die Hyaluronidase inaktivieren kann mit einer Substratvergiftung erklärt. BERGENSTAHL und SCOTT fanden, daß Vesikulardrüsensekret die von den Spermien gelieferte Hyaluronidase aktivieren kann.

#### Antikörper:

Da die Hyaluronidasen echte Eiweißverbindungen sind, stellen sie Antigene dar. BEHRING konnte bei wiederholten Injektionen Antiseren erhalten. HEGEMANN erhielt Seren, die spezifische Antikörper gegen die benutzte Hyaluronidase enthielten.

Diese Antigene sind nicht nur gegen Testes- und Bakterien-Hyaluronidasen allgemein gerichtet, sondern bei Testes-Hyaluronidasen auch je nach Tierart verschieden und spezifisch (LEONHARD u. KURZROK). Nach DURAN-REYNALS ist die Testes-Hyaluronidaseproduktion bei immunisierten Tieren nicht verändert.

Nach FRIOU besitzt das menschliche Normalserum eine gewisse Menge an Antikörpern gegen die Hyaluronidasen von hämolytischen A-Streptokokken und von Pneumokokken. Es handelt sich offenbar um eine natürliche Immunität infolge des allgemeinen Vorkommens der betreffenden Bakterien.

Die Antikörper sind thermostabil; d.h. sie werden bei halbstündigem Erwärmen auf 56° nicht zerstört. Beim Menschen sinkt im ersten Lebensjahr ihre Konzentration ab, nach der passiven Immunisierung von der Mutter her. Bis zum 20. Lebensjahr steigen die Antikörper auf ihren Höchstwert an, der erst im hohen Alter zu sinken beginnt. Diese Antikörper wandern mit der Globulinfraktion des Serums (MOORE u. HARRIS).

Natürliche Antikörper gegen andere Bakterien die Hyaluronidase erzeugen, kommen anscheinend nicht vor. Zumindest sind sie nicht in meßbaren Mengen im Serum vorhanden, sei es wegen ihrer größeren Instabilität oder wegen der unzulänglichen Hyaluronidaseproduktion dieser Erreger.

Die unter Spermaimmunität angeführte biologische, zeitweilige Sterilisierung durch Injektion von Spermapräparaten, bei der eine spermatotoxische Wirkung des Zervikalsekretes aufgetreten ist, hat nach WALLENFELS nichts mit einer Hyaluronidase-Neutralisierung zu tun. Ebensowenig steht dazu die spermaagglutinierende Wirkung von Sperma-Antiserum in Beziehung.

Der Serumspiegel dieser spezifischen Inhibitoren ist stark erhöht bei und nach Streptokokken- bzw. Pneumokokken-Erkrankungen aller Art (FRIOU u. WENNER). Es ist dies ein Zeichen einer typischen Abwehrreaktion gegen eine bestehende oder vorangegangene Überschwemmung mit diesen Erregern und deren Toxinen. Der Inhibitorspiegel ist besonders in der Rekonvaleszenzzeit erhöht, im übrigen geht er parallel mit dem Krankheitsverlauf (THOMPSON).

Der Serumspiegel der Inhibitoren beim Menschen ist praktisch unabhängig vom Alter und Geschlecht. Allerdings erscheint er bei Männern im zeugungsfähigen Alter etwas erniedrigt zu sein (DORFMANN, OTT u. WHITNEY).

#### Medizinische Bedeutung:

Erhöhte Infektionsbereitschaft kann auf einer erhöhten Gewebshyaluronidase Tätigkeit oder auf verminderter Inhibitorproduktion beruhen. Die Ursachen können dann örtlicher oder zentraler Natur sein. Unter anderem soll Unterernährung zu einer Erniedrigung des unspezifischen Serum-Inhibitorspiegels führen (TOBIN, BERGENSTAHL u. STEFFEE).

Auch Störungen der Fortpflanzungsfähigkeit können mit gestörter Hyaluronidaseproduktion zusammenhängen, wodurch gewisse Formen männlicher Infertilität verständlich werden.

#### Die Rolle bei der Konzeption:

Ist ein einziges Spermium imstande beim Zusammentreffen mit einem Ei, dessen Hülle zu durchdringen und bis ins Innere selbst vorzustoßen oder braucht es dazu die Unterstützung einer gewissen Anzahl weiterer Spermatozoen, die selbst nicht zur Befruchtung kommen ?

Die Tatsache, daß beim Manne mit normaler Fertilität im Ejakulat von durchschnittlich 3 ccm ca. 180 - 300 Millionen Spermien vorhanden sind, wobei dagegen nur ein einziges Spermatozoon zur Befruchtung dient, ist wohl nicht nur als eine vorsorgliche Maßnahme der Natur zur Erhaltung der Art zu deuten. Außerdem sollen nach HAMMOND u. ALLAN nicht die zuerst in der Tube ankommenden Spermien befruchtend wirken, sondern die erst einige Stunden später zum Ei gelangenden.

Es ist seit langem bekannt, daß die Befruchtung nur dann erfolgt, wenn die Konzentration der Spermien in der Samenflüssigkeit einen bestimmten Minimalwert (50 Millionen ccm) überschreitet. Aber selbst bei sehr weitgehender Oligospermie, bei der erfah-

rungsgemäß niemals eine Befruchtung beobachtet wird, beträgt die Anzahl der in dem Ejakulat sich befindenden Spermatozoen meist noch mehr als 100 Millionen. Daß bei einer derartigen Oligospermie von immerhin 100 Millionen Spermien die in die Tube eindringen, nicht ein einziges auf das Ovulum trifft und damit die Befruchtung vollziehen könnte, erscheint sehr unwahrscheinlich. Die Ursache warum in diesen Fällen niemals eine Konzeption stattfindet, dürfte daher wohl nicht bei einer verminderten Anzahl der Spermien und der damit ebenfalls verringerten Wahrscheinlichkeit des Zusammentreffens von Spermatozoon und Eizelle zu suchen sein. Man nimmt nun an, daß in diesem Falle die von den Spermien erzeugte Hyaluronidase -Menge nicht ausreicht, um das Ovulum aus seiner Umhüllung freizusetzen. Die Befruchtung wird zwar von einem einzigen Spermatozoon allein vollzogen, dieses soll aber der Mithilfe von Millionen anderer Spermien bedürfen, deren Hyaluronidase-Ausscheidung ihm den Weg zur Eizelle bahnen hilft. Auch bei der durch wiederholte Ejakulation hervorgerufenen Oligospermie sinkt der Hyaluronidasegehalt des Spermas erheblich ab. Wie weiter oben angeführt, erfolgt die Bildung der Hyaluronidase schon im Spermatozyten, also schon in einem sehr frühen Stadium der Spermiogenese (RIISFELDT). Testisextrakte geschlechtsreifer Individuen enthalten deshalb große Mengen an Hyaluronidase. Bei Kryptorchismus und in der Präpubertät ist dagegen der Hoden hyaluronidasefrei. Durch Samenstrangunterbindungen oder durch Verabreichen androgener Hormone kann der Hyaluronidasegehalt des Hodens erheblich gesteigert werden (CADILI u. VOTI). Nach Hypophysenexstirpation sinkt er anscheinend parallel mit dem Absinken der Spermiogenese (LEONHARD, PERLMAN u. KURZROK).

Trotzdem die Bildung von Hyaluronidase ausschließlich an die Spermiogenese gebunden ist, wurden von MC CLEAN Patienten gesehen, bei denen trotz großer Spermienzahl der Hyaluronidasegehalt des Spermas gering war. JOHNSTON, STONE, MIXNER u. VANDELLI bestätigen diese Angaben. JOEL beschrieb einige seltene Fälle, wo ohne besondere morphologische Anzeichen überhaupt keine Hyaluronidase vorhanden war. Es gibt also Fälle von männlicher Infertilität, bei denen sich nur ein negativer Hyaluronidase-Befund im Sperma nachweisen läßt.

Anzeichen dafür, daß infertile Frauen etwa einen erhöhten Inhibitorspiegel im Blute hätten, sind von FAVILLI und KURZROK nicht gefunden worden.

Nach de RUDDER scheint auch ein Durchtritt von Serum und damit von Inhibitoren in die Uterusflüssigkeit normalerweise nicht zu erfolgen. Nach experimenteller Immunisierung von Ratten konnte er nur selten eine Hyaluronidase-Hemmwirkung in der Uterusflüssigkeit feststellen.

In Fällen von Oligospermie, bei denen eine Konzeption bisher nicht stattfand, versuchte man durch Zusatz von Hyaluronidase zum Sperma bei künstlicher Befruchtung, oder durch direkte Applikation von Hyaluronidase-Präparate in den Zervikalkanal eine Konzeption zu erzielen. Zum Teil soll ein Ansteigen der Befruchtungswahrscheinlichkeit beobachtet worden sein.

ROWLANDS konnte an Kaninchen zeigen, daß die zur Aufrechterhaltung der Befruchtungswahrscheinlichkeit notwendige Spermienzahl durch Zusatz von Hyaluronidase herabgesetzt werden kann. KULONEN führte in der Tierzucht vielfach künstliche Befruchtungen mit Hyaluronidasezusatz durch.

Nach KURZROK, LEONHARD und ROWLANDS soll sich die erforderliche Mindestzahl an Spermatozoen wesentlich reduzieren lassen, wenn man der verdünnten Spermiesuspension Hyaluronidase zusetzt. Im Durchschnitt benötigt man für eine 50%ige Befruchtungsrate ungefähr den 6. Teil der Spermatozoen, wenn man gereinigte Hyaluronidase beifügt. Der Kontrollversuch ohne Zusatz von Hyaluronidase läßt dagegen nur einen 50%igen Befruchtungserfolg erwarten. Die aus diesen Versuchen in vitro gezogene Konsequenz der Anwendung der Hyaluronidase beim Menschen in Fällen von männlicher Infertilität bei Oligospermie soll jedoch wenig Erfolg gezeitigt haben. Zunächst wurden einige gute Ergebnisse veröffentlicht. Spätere Untersuchungen konnten aber nicht den Beweis erbringen, daß die Hyaluronidase die Befruchtungsfähigkeit der Spermatozoen erhöhen könne (T.MANN). CHIANG führt die anfänglichen positiven Resultate, die durch die Gesamt - Samenextrakte erzielt wurden, nicht auf die Hyaluronidase, sondern auf die Wirkung anderer Bestandteile des Samenplasmas bzw. Hodenextraktes zurück. Eine hochgereinigte Hyaluronidase soll bei der

Kaninchenbesamung keinen Einfluß auf die Befruchtungsfähigkeit von verdünntem Sperma gehabt haben.

### Verdünnungseffekt

Bei der als Beweis für die biologische Bedeutung der Hyaluronidase für die Konzeption hauptsächlich herangezogenen Tatsache, daß verdünnte Spermasuspensionen in ihrer befruchtenden Wirkung durch Zusatz von Hyaluronidase-Präparaten gesteigert werden können, erscheint es von einiger Bedeutung, das Verhalten der Spermatozoen bei dieser Verdünnung näher zu untersuchen. Nach WALLENFELS sollen sowohl die Beweglichkeit, die Atmung als auch die befruchtende Kraft der Spermatozoen durch die Verdünnung stark beeinträchtigt werden. Z.B. bleibt Kaninchensperma in Baker -Lösung in einer Konzentration von 20 Millionen Zellen pro ccm für 2-3 Tage bei Zimmertemperatur voll beweglich, während dasselbe Sperma in einer Verdünnung von 400 000 Zellen pro ccm innerhalb von 1-2 Stunden bewegungslos wird. Dieser Verlust an Beweglichkeit läßt sich nach SWYER und EMMENS durch Stärke, Glykogen, Serumprotein, Eiklar und Eidotter weitgehend verhindern. Die gleiche Wirkung besitzt das von den Spermatozoen befreite Samenplasma. Hierbei soll es ohne Bedeutung sein, ob es Hyaluronidase enthält oder nicht. Diese Beobachtungen würden die Ansicht von CHANG bestätigen, wonach es zweifelhaft erscheint, ob die berichteten höheren Befruchtungserfolge bei der Verdünnung des Spermas mit Hodenextrakten oder Samenplasma tatsächlich nur auf dem höheren Gehalt an Hyaluronidase beruhen.

### Hyaluronidase und Sperma

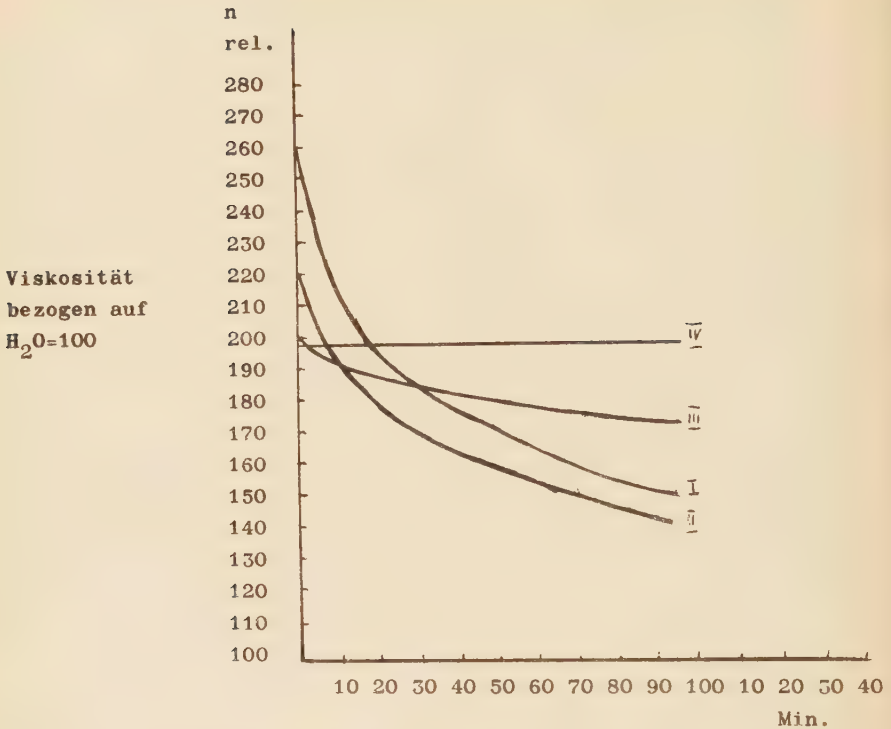
Beim normal fertilen Manne enthält das durchschnittliche Ejakulat von 3-4 ccm ca. 300-400 Millionen Spermien. Von diesem Volumen entfallen auf die Spermien selbst nur 0,02 ccm. Starre Relationen zwischen der Menge des Ejakulates und der Spermatozoen Zahl pro ccm bestehen jedoch nicht. Zwischen der Zahl der Spermien im Samen und der Hyaluronidasewirkung besteht jedoch eine quantitative Beziehung. Nach SWYER sind  $\frac{3}{4}$  des Fermentes in den Spermatozoen enthalten und nur  $\frac{1}{4}$  im Samenplasma. PERLOFF und NODINE finden, daß der Hyaluronidasegehalt der Anzahl der Spermien direkt proportional ist. Bei

50 Hodenproben , die nach dem Hahnschen-Verfahren aufgearbeitet wurden, konnten sie nur bei 21 Fällen eine deutlich meßbare Hyaluronidase-Aktivität nachweisen. Die wichtigste Beobachtung, die im Rahmen dieser Untersuchungen gemacht wurden, ist wohl der Befund, daß Hyaluronidase nur in Hoden gefunden wurde, die ausgereifte Spermatozoen enthielten. Die Hyaluronidase-Produktion im Hoden soll streng von der Funktion des Keimepitheles abhängig sein. Extrakte aus Hoden zeigten nur bei histologisch nachgewiesener Spermiogenese Hyaluronidase-Wirkung. Die Spermien bringen das Ferment an den Ort seiner Wirkung. Auf Grund der Arbeiten von SWYER ergibt es sich, daß der Transport der Hyaluronidase zum Ei nicht unbedingt an die Spermien gebunden sein muß. Denn es gelingt ihm beim Kaninchen, nach intravaginaler Deponierung der Hyaluronidase und nach erfolgreicher Ovulation, nackte Tuben-Eier zu gewinnen.

JOEL berichtet über ein Material von 109 Probanden mit 156 Ejakulaten und 220 Hyaluronidase-Bestimmungen aus steriler Ehe. Die Verteilung der Spermiabefunde auf die einzelnen Samenzustandsbilder ergibt folgendes:

|                    |    |               |
|--------------------|----|---------------|
| 1. Normospermie    | in | 48 Ejakulaten |
| 2. Hypozoospermie  | in | 43 Ejakulaten |
| 3. Oligozoospermie | in | 34 Ejakulaten |
| 4. Azoospermie     | in | 21 Ejakulaten |
| 5. Aspermie        | in | 10 Ejakulaten |

Nach erfolgter Samenuntersuchung wurden die Ejakulate in mehreren Fermentversuchen geprüft. Er gibt dabei folgende Viskositätsabfall-Kurve an:



Er stellte eine deutliche Parallelität zwischen dem Gehalt an Hyaluronidase und der Spermienzahl fest. Bei Aspermien (Fehlen von Spermien und zelligen Elementen) und bei Azoospermien (nur Vorhandensein von Zellen der Spermiogenese im Samen) zeigte sich keine Hyaluronidase-Aktivität.

Nach Abzentrifugieren des Spermas und mehrmaligem Waschen des Zentrifugates mit Ringerlösung sollen sowohl die Formelemente des Ejakulates als auch die überstehende Spermaflüssigkeit Hyaluronidase-Wirkung zeigen. Die Fermentkonzentration soll in den Formelementen etwas größer gewesen sein als im Plasma. WERTHESEN und Mitarbeiter sowie KURZROK finden, daß die Gesamtfermentwirkung parallel mit der Spermienzahl absinkt, und zwar sowohl auf Kosten der Spermatozoen-Wirkung als auch der Wirkung des Plasmas. MICHELSON

und KOETS bestätigen diese Ergebnisse.

PERLOFF und NODINE sehen dies als weiteren Beweis dafür an, daß die Hyaluronidaseproduktion im Hoden streng von der Tätigkeit des Keimepitheles abhängig ist, gleichgültig ob nun die Spermiogenese zu normalen Spermien führt oder auf einem früheren Stadium der Spermatozoenentwicklung stehen bleibt.

Ein weiterer Beweis dafür, daß die Hyaluronidase in den Samenkörpern enthalten ist, wird von russischer Seite gegeben (SCHREIER). Als Versuchstiere dienten ihnen weibliche Mäuse, die 15 Minuten bis 30 Stunden nach dem Koitus getötet wurden. Sie finden dabei, daß in den ersten 15 Minuten der Uterus, genau wie bei den Kontrolltieren, keine Hyaluronidase enthält. Mit der Invasion der Spermien steigt der Enzymgehalt immer stärker an, um sein Maximum nach 4-5 Stunden zu erreichen und dann später wieder abzufallen. Bei 2 Tieren fanden sie nach 2, bzw. 5 Stunden post coitum keine Hyaluronidase, obwohl das Uterusinnere mit Sperma angefüllt war, das sich allerdings völlig unbeweglich zeigte. Die Verfasser nehmen nun an, daß bei diesen beiden Tieren ein besonderer Mechanismus zur Abtötung der Spermien geführt habe.

### Dispersion

Die nach dem Follikelsprung in die Tube einwandernden Ovula sind noch von einer Anzahl von Follikelzellen umgeben. Ähnlich wie die Zellen anderer Gewebe sind auch diese Follikelzellen an das Ei durch eine Art Kittsubstanz gebunden, an deren Bildung Polysaccharide beteiligt sind. Die Möglichkeit, daß ein derart von Follikelzellen und außerdem von einer Schleimschicht, welche durch die Sekretion der Tube erzeugt wird, umhülltes Ovulum befruchtet werden kann, soll mit größter Wahrscheinlichkeit davon abhängen, daß eben diese Schleimschicht und die Kittsubstanz gelöst werden, welche die Follikelzellen an das Ei binden (STARY und TEKMAN). Diese Fähigkeit, die interzelluläre Kittsubstanz zu lösen und die Ovula aus ihrer Umhüllung freizusetzen, wird zum größten Teil dem Ferment Hyaluronidase zugeschrieben. Nach KIMMIG, der ihre Notwendigkeit für die Auflösung des Cumulus oophorus als gesichert betrachtet, soll das Ferment eine unterstützende Funktion bei dem Konzeptions-

vorgang ausüben, indem es dem Spermatozoon den Weg bahnt und ihm zum Eindringen in das Ei verhilft.

### Transport des Eies

SWYER berichtet, daß ein Kaninchenei, dessen Cumulus oophorus in vitro durch Hyaluronidase entfernt war, und das mit intakter Corona radiata in den Eileiter eines anderen Kaninchens implantiert wurde, innerhalb weniger Stunden von Follikelzellen entblößt gewesen sei. Da Extrakte aus dem Eileiter keinerlei Wirkung auf die Corona radiata besaßen, zog er den Schluß, daß die Corona radiata im Verlauf der Passage des Eies durch den dicht mit Cilien besetzten Eileiter mechanisch entfernt werde. Die Denudation des Eies sei demnach also in erster Linie als eine Funktion der Tube aufzufassen, wobei die Cilien der Ampulle die Zellen der Corona radiata gewissermaßen abbürsten. Die in der Tube wirksame Spermienhyaluronidase wirke hierbei unterstützend. Außerdem ist er der Ansicht, daß auch noch ein in den Tuben enthaltener Faktor hinzutreten muß, damit in vivo die Zellen der Corona radiata abgelöst werden könnten. Nach TYLER soll die Befreiung des Eies von den Follikelzellen für die Befruchtung nicht von entscheidend wichtiger Bedeutung sein, da die Spermatozoen auch in das von intakten Zellen umgebene Ei eindringen könnten. LEONHARD, PERLMAN und KURZROK konnten beobachten, daß Eier von Ratten, die 12 bis 16 Stunden nach natürlicher Begattung dem Eileiter entnommen wurden, noch völlig in Cumulus oophorus eingebettet waren. Nach Ablösung desselben durch Hyaluronidase fanden sie jedoch, daß Spermien bereits in die Zona pellucida eingedrungen waren.

Daß der Cumulus oophorus und die Corona radiata durch verschiedene Mechanismen dispergiert werden, läßt sich auch aus der Tatsache schließen, daß bei gewissen Carnivoren, z.B. Fuchs, Hund und Katze die Zellen der Corona radiata noch längere Zeit nach der Befruchtung am Ei haften bleiben, sogar dann noch, wenn die Teilung des Eies schon begonnen hat.

Wenn deshalb der Auflösung des Cumulus oophorus durch die Hyaluronidase auch keine absolute Bedeutung für den Konzeptionsvorgang zukommt, so ist es trotzdem denkbar, daß das Ferment einen wesent-

lichen Faktor für das einzelne Spermatozoon darstellt bei der Bahnung des Weges zu dem Ei.

Nach WALLENFELS läßt sich die Bedeutung der Hyaluronidase besser verstehen, wenn man annimmt, daß das Ferment die Passage des befruchteten Eies durch die Tube ermögliche oder zumindest erleichtere. Dies würde auch damit übereinstimmen, daß dieses Enzym eine relativ späte Errungenschaft im Evolutionsprozeß ist.

Nach WALTON soll für das Spermatozoon der Durchgang durch die Tube ein weit schwierigerer Vorgang sein als die Dispersion des Cumulus oophorus. Um den Eileiter durchwandern zu können, benötige es deshalb die Unterstützung der Hyaluronidase.

Weiterhin soll die Fähigkeit der Hyaluronidase, die interzellulären Kittsubstanzen lösen zu können, auch eine entscheidende Rolle bei der Nidation des befruchteten Eies spielen.

#### Hyaluronidase und Abort

TYLER wies darauf hin, daß nach Konzeption durch ein spermienarmes Ejakulat eine erhöhte Abortgefahr besteht. NIENDORF untersuchte bei 18 Frauen mit habituellen Aborten, deren Ursachen nicht bekannt waren, das Ejakulat der Ehemänner. In 15 Fällen stellte er eine Oligospermie, gekoppelt mit einer Hypofermentie, fest. Nur in 2 Fällen konnte er einen normalen Spermaefund erheben, während sich bei einem Probanden eine Normospermie mit einer Hypofermentie zeigte. Er mißt der Hyaluronidase des Spermas eine besondere Bedeutung für die Frühentwicklung des Eies bei und hält eine ungenügende Fermentkonzentration in der Tube bei der Entstehung von Spontanaborten für ursächlich sehr bedeutsam.

KEPP und VASTERLING untersuchten das Sperma eines seit 2 Jahren kinderlos verheirateten Mannes und fanden 3 Mill. Spermien pro ccm bei einer Ejakulatmenge von 5,5 ccm vor. Auf Grund des Gesamtbefundes sahen sie die Befruchtungswahrscheinlichkeit als sehr gering an. Bei eingehender gynäkologischer Untersuchung der Frau ließ sich keine Ursache für eine Infertilität eruieren. Die Ehefrau hatte ihre letzte Periode 19 Tage vor der Untersuchung des Ehemanns gehabt. Die letzte Kohabitation erfolgte 4 Tage vor der

Untersuchung. 14 Wochen nach der Untersuchung des Ehemannes stellte man bei der Frau eine Gravidität etwa in der 12. Woche fest. Grund der Untersuchung der Patientin war ihr Klagen über immer wieder auftretende leichte Blutungen seit der letzten Periode. Kurze Zeit später kam es dann zu einer Fehlgeburt. KEPP und VASTERLING sind der Ansicht, daß die Ursache für den Abort in einer zu niederen Fermentkonzentration zu suchen sei, da bekanntlich eine strenge Korrelation zwischen der Spermienzahl und der Hyaluronidasekonzentration bestehen würde.

### Inhibitoren als Antikonzipiens

Bei den Versuchen, ein unschädliches und kontrollierbares, oral anzuwendendes Antikonceptivum zu finden, bediente sich SIEVE der inhibitorischen Wirkung des Hesperidinphosphates auf das Ferment Hyaluronidase. Nachdem sich in Tierversuchen nach Absetzen des Mittels 100 %ige Fertilität wieder einstellte und sich bei der klinischen Anwendung des Hesperidinphosphates als antihämorrhagischer Faktor keinerlei Nebenwirkungen zeigten, wandte er diese inhibitorische Substanz bei über 300 Menschenpaaren unter ständiger Kontrolle und Beobachtung an. Die Dosierung betrug 5 mg Hesperidinphosphat pro kg Körpergewicht plus einem kleinen Zusatz im Falle einer minimalen Resorption oder verstärkten Ausscheidung. Nach 10-tägiger Verabreichung des Hesperidinphosphates an Mann und Frau in der obengenannten Dosierung soll eine vollständige Konzeptionsverhinderung eingetreten sein. Nebenwirkungen konnte er nicht beobachten. Nach Absetzung des Mittels soll nach 48 Stunden eine normale Fertilität wieder eingetreten sein.

### Carbohydrasen

LUNDBLAD und HULTIN, zit. HOPPE-SEYLER, entdeckten im Bullensperma eine Amylase, deren pH-Optimum bei pH 7 liegt.

Nach RUNNSTRÖM, zit. HOPPE-SEYLER, kommt der Carbohydrase möglicherweise einige Bedeutung zu, da sie die Spermien bei der Durchdringung der Eimembran, die einige Mucopolysaccharide enthält, unterstützen soll. Carboanhydrase findet sich nach MAWSON und FISCHER

im Sperma nur in einer zu vernachlässigenden Konzentration.

## Dehydrasen

Von BÖNNER wurde eine Dehydrase im Sperma gefunden. SUTO gelang es, dieses Ferment durch Blausäure zu aktivieren. Die Ursache dafür sieht er in der Aufhebung der Hemmung der Dehydrase durch Keto-, Brenztrauben- und Laevulinsäure.

BÖNNER glaubt in der Bestimmung der Aktivität der Dehydrase einen Maßstab für die Intensität des Stoffwechsels der Spermatozoen und damit für die Fertilität der menschlichen Samenfäden gefunden zu haben. Bei dem Versuch wird der im anaeroben Stoffwechsel der Spermien aus Glukose durch intrazelluläre Enzyme abgespaltene Wasserstoff durch Methylenblau gebunden. Es wird die Dauer des Reduktionsprozesses von Methylenblau zu Leukomethylenblau bestimmt. Je größer die Menge der lebenden Samenfäden, desto kürzer ist die Entfärbungszeit (Dehydrierungsaktivität). Folgende Werte sind von ihm gefunden worden:

|                                  |             |                 |
|----------------------------------|-------------|-----------------|
| Normaler Spermiengehalt          | 3,5- 4 Std. | Entfärbungszeit |
| Oligospermie                     | 4 -10 "     | "               |
| Noch Zeugungsfähigkeit vorhanden | 4 - 5 "     | "               |
| Behandlung notwendig             | 5 -10 "     | "               |
| Therapie nutzlos                 | 10 -12 "    | "               |
| Aspermie bei mehr als            | 12 "        | "               |

## Zytochrome

KIMMIG sowie MANN konnten mit Hilfe spektroskopischer Methoden die Zytochrome a, b und c im Sperma nachweisen. Nach den Untersuchungen von T.MANN sind die Cytochrome im frischen menschlichen Samen nur in der oxydierten Form vorhanden. In Fruktose-Ringerlösung werden die Cytochrome allmählich reduziert. Auch das Coenzym A muß vorhanden sein; jedoch ist der experimentelle Nachweis dafür noch nicht gelungen. Normalerweise finden sich diese Fermente nur in den Spermatozoen und nicht im Seminalplasma. Werden die Spermien dagegen geschädigt, so läßt sich Cytochrom c auch in dem umgebenden Medium nachweisen. T.MANN konnte die Cytochrome im Sperma von Mensch, Stier, Eber und Schafbock nachweisen.

## Esterasen

### a) Cholinesterasen

Nach JOEL ist die Bedeutung der Cholinesterase eng mit der Fortpflanzung und der Gravidität verknüpft. BÜRKENHÄUSER und ZELLER, zit. JOEL, sind der Ansicht, daß dieses Ferment der unmittelbaren Einwirkung des Follikelhormons untersteht. Von der Cholinesterase werden pro ccm Sperma ca. 70 cmm  $\text{CO}_2$  im Verlauf von 60 Minuten in Freiheit gesetzt. Diese Aktivität ist im Vergleich mit der anderer Organe sehr klein. Die entsprechenden Werte im Serum betragen 3600 cmm und im Gehirn (Nucleus caudatus) 38000 cmm. Bei getrennter Untersuchung von Spermatozoen und Seminalplasma stellt sich heraus, daß die gesamte Fermentaktivität an das Plasma gebunden ist. Die Cholinesterareaktivität in der Prostata ist höher als die des Spermas.

### b) Lecithinase

DELORY gibt an, daß eine Lecithinase im Sperma nicht nachgewiesen werden kann.

## Aminooxydase

Der Sauerstoffverbrauch des menschlichen Spermas ist hauptsächlich den in der Spermaflüssigkeit gelösten Fermentsystemen zuzuschreiben. Dies erklärt auch die Tatsache, daß der Sauerstoffverbrauch bei Azoospermie nicht wesentlich vermindert ist. JOEL sowie ZELLER erbrachten den Beweis, daß im Sperma die Aminooxydase vorhanden ist. Nach JOEL soll sie sich nur im Plasma und nicht in den zelligen Bestandteilen des Samens befinden. Ein Substrat dieses Fermentes ist das Spermin. Der Gehalt des Spermas an Diaminooxydase ist etwa 100 mal größer als der des Blutserums. Im Versuch konnte gezeigt werden, daß menschliches Sperma in der Lage ist, auch das Cadaverin abzubauen.

Die Aminooxydase soll ebenso wie die Cholinesterase aufs engste mit Fortpflanzung und Gravidität verknüpft sein. Ihre Bestimmung im Blutserum wird zu einer rein chemischen Schwangerschaftsdiagnose benützt.

Als wahrscheinliche Quelle der im Sperma vorhandenen Enzyme kommen Prostata und Bläschendrüsen in Betracht. Der Diaminooxydasegehalt der Prostata ist beträchtlich niedriger als die Konzentration dieses Fermentes im Sperma. Trotzdem ist sie noch wesentlich höher als im Blutserum. Monoaminooxydase findet sich in der Prostata in größeren Mengen. Die Konzentration von Mono- und Diaminooxydase in Prostata und Bläschendrüsen ist ungefähr die gleiche.

#### Vorkommen der Fermente (nach JOEL)

| Ferment          | Spermien | Sp.Plasma | Prostata | Bläschendrüsen |
|------------------|----------|-----------|----------|----------------|
| Cholinesterase   | -        | +         | ++       | -              |
| Monoaminooxydase | -        | ?         | ++       | ++             |
| Diaminooxydase   | -        | ++        | +        | +              |

Nach ZELLER soll noch mindestens ein weiteres durch Semicarbacid nicht hemmbares, sauerstoffverbrauchendes Fermentsystem in der Spermaflüssigkeit existieren.

#### Proteolytische Fermente

##### a) Fibrinabbauende Fermente

v.KAULLA und SHETTLES sind der Ansicht, daß das Spermaplasma folgendes fibrinabbauendes Fermentsystem enthält: 1. ein aktiviertes fibrinabbauendes Ferment, 2. einen Inhibitor dieses Fermentes, der auch Plasmin hemmt, 3. einen Inhibitor mit Fibrinolysokinaseaktivität, der möglicherweise mit 1 identisch ist, 4. einen mit Streptokinase aktivierbaren Faktor. Möglicherweise handelt es sich dabei um eine Vorstufe des fibrinolytischen Fermentes (etwa Plasminogen). Dieser Faktor konnte auch im Zervikalschleim und im Liquor folliculi nachgewiesen werden. Ob diese Faktoren im Samenplasma oder in den Spermatozoen mitgeführt werden, ist bis jetzt noch nicht geklärt. Schon 1942 haben HUGGINS und Mitarbeiter, zit. v.KAULLA, darauf aufmerksam gemacht, daß sich im Sperma von Mensch und Hund ein fibrin- bzw. fibrinogenabbauendes Fermentsystem befindet.

LUNDQUIST ließ einen rohen Spermaextrakt auf Casein einwirken

und fand dabei ein Aktivitätsoptimum bei einem pH-Wert von 7,6. Eine Aktivierung durch Metallionen (Mg, Mn, Ca, Zn, Cu) in einer Konzentration von  $10^{-3}m$  war nicht festzustellen. Das Ferment wird in der Prostata und in den Bläschendrüsen gebildet. Es zeigte sich, daß das Substrat, welches die größte Menge an Aminosäuren liefert, offenbar den Bläschendrüsen entstammt und Ähnlichkeit mit dem Fibrin zeigt. Läßt man nämlich dieses Enzym auf Fibrin einwirken, so erhält man dieselben Aminosäuren wie bei der Aufspaltung des Spermas. Das Ferment kann aber nicht mit Trypsin identisch sein, da es ein anderes pH-Optimum wie dieses besitzt. Fibrin von Rindern und Menschen wird von diesem Enzym relativ rasch abgebaut. LUNDQUIST bestätigt die von CHRISTENSEN, zit.v.KAULLA, gemachte Beobachtung, daß die Aminosäuren bei der Inkubation dieses Fermentes im Sperma zunehmen. Er erklärt dies durch den Abbau von Spermafibrin. Die Fibrinolyse soll nach einem besonderen Schema verlaufen. Im Gegensatz zu gereinigtem Plasmin (Fibrinolysin) tritt beim Auslösen der Fibrinolyse durch Spermaplasma nicht die schnellste Fibrinolyse bei der größten Seminalplasmakonzentration ein. Bei bestimmten Konzentrationen tritt die Fibrinolyse in geronnenem Plasma rascher als in geronnenen Fibrinogenlösungen auf. Aus diesem Grunde wird ein Inhibitor vermutet, der bei zu geringen Konzentrationen bis zur Wirkungslosigkeit verdünnt wird.

#### b) Pepsin

Aus der menschlichen Samenflüssigkeit konnte LUNDQUIST ein kristallines Pepsin gewinnen. Als Bildungsstätte des Pepsinogens nimmt er die Bläschendrüsen an. Die Funktion dieses Fermentes ist noch unklar. Eine Aktivierung dieses Enzyms soll bei einem pH-Wert von 3-4 erfolgen. Da der ejakulierte Samen im Genitaltrakt der Frau zu keiner Zeit eine solch hohe Wasserstoffionenkonzentration antrifft, nimmt man an, daß das Pepsinogen vielleicht an der Oberfläche der Spermatozoen adsorbiert werde. Dort soll durch die von den Zellen ausgeschiedenen Stoffwechselprodukte eine solche Acidität entstehen, die eine Aktivierung des Fermentes wahrscheinlich macht. Das Enzym tritt im Sperma ungefähr in der gleichen Konzentration wie im Magensaft auf.

### c) Aminopeptidase und Protease

LUNDQUIST weist noch auf das Vorhandensein zweier weiterer Enzyme im Sperma, einer Aminopeptidase und einer Protease, hin. Ihre Wirksamkeit soll in engem Zusammenhang mit der Verflüssigung des Samens stehen. Nach HUGGINS und NEAL, zit. HOPPE-SEYLER, kommt ein trypsinhaltiges Ferment mit einem pH-Optimum von 7,5 in kleinen Mengen im Sperma vor.

### d) Vesikulase

Die Vesikulase findet sich in der Prostata des Meerschweinchens. Sie soll die schnelle Koagulation des Meerschweinchen-spermas nach der Begattung einleiten, die zur Bildung des Vaginalpfropfes post coitum führt (HOPPE-SEYLER).

## Vitamine

Vitamin C: Unter den verschiedenen Tierarten schwankt der Ascorbinsäuregehalt des Spermas beträchtlich. Besonders niedere Werte zeigt der Samen des Hundes (LUNDQUIST, zit. HOPPE-SEYLER).

Der Ascorbinsäuregehalt im Sperma bei verschiedenen Arten in mg%  
(HOPPE-SEYLER)

|                 |         |                     |
|-----------------|---------|---------------------|
| Stier           | 3 - 8   | Lundquist           |
| Hund            | 0,75    | Lundquist           |
| Meerschweinchen | 4,6-6,4 | Zimmet, Saucer Hall |
| Meerschweinchen | 8,3     | Berg                |
| Mensch          | 2,6-3,4 | Nespor              |
| Mensch          | 12,8    | Berg                |

Die Ascorbinsäure stammt aus Hoden und Prostata.

Ascorbinsäuregehalt verschiedener Organe vom Meerschweinchen  
(BERG, zit. HOPPE-SEYLER)

|                                | Hoden | Ejakulat | Leber | Nebenniere |
|--------------------------------|-------|----------|-------|------------|
| normal                         | 31    | 7        | 50    | 100        |
| nach 21 Tagen<br>Vit. C-Mangel | 4     | 0,9      | 4     | 4          |

Nach BERG, zit. HOPPE-SEYLER, soll beim Vitamin C-Mangel des Meerschweinchens neben einem Absinken des Ascorbinsäurespiegels im Sperma auch die Zahl der Spermien von normal 6000 bis 7000 pro cmm auf etwa 1000 pro cmm abnehmen. Aus diesem Grunde schließt er die Möglichkeit eines Zusammenhanges zwischen Ascorbinsäurespiegel und Fertilität nicht aus. LARDEY und PHILLIPS stellten einen höheren Vitamin C-Gehalt des Ejakulates von fertilen Bullen gegenüber infertilen fest. JÜRGENS, zit. HOPPE-SEYLER, konnte jedoch keine Beziehung zur Fertilität feststellen.

Vitamin B: Nach LUNDQUIST werden im Tiersperma Aneurin, Laktoflavin, Panthotensäure und Niacin gefunden.

Vitamin A: Nach EVANS ergibt Vitamin A-Mangel bei Ratten eine Degeneration der Samenepithelien.

Vitamin E: Vitamin E-Mangel soll die gleichen Symptome zeigen, die bei Ausfall des Hypophysenvorderlappens auftreten. Durch Vitamin E-Zufuhr wird eine Stimulierung der Hypophyse erreicht (HEINSEN). Im Sperma von Rind, Pferd, Schwein, Kaninchen und Mensch finden LINDAHL und KIELSTRÖM, zit. HOPPE-SEYLER, Tocopherol, das wahrscheinlich an der Verhinderung der Kopf-zu-Kopflagglutination beteiligt ist.

## ZUSAMMENFASSUNG

In der Arbeit werden die einzelnen Möglichkeiten besprochen, die Ursache einer Fertilitätsstörung sein können, auch wenn der Spermabefund völlig normal erscheint.

Unter Spermaimmunität versteht man eine serologische Abwehr des weiblichen Organismus gegen ein und dasselbe wiederholt aufgenommene Sperma. Die Samenfäden werden serologisch so beeinflußt, daß eine Befruchtung nicht stattfinden kann. In Tierversuchen gelingt es, durch wiederholte Injektionen von Ejakulaten im Blute der weiblichen Tiere eine deutlich spermatotoxische Wirkung festzustellen und eine Verzögerung der Gravidität zu erzielen. Die Stärke der Immunisierung ist der Menge des injizierten Antigens direkt proportional. Bei Tieren kann man durch heterologe Spermienzufuhr Sterilität auslösen.

Als Kriterium für die Resorption des Ejakulates im weiblichen Körper dient die durch die Spermatoxine im Blute hervorgerufene Komplementablenkung. Der Spermaimmuntiter im Blutserum ist stark von der Frequenz der Kohabitationen abhängig. Je höher im Blute der Spermaimmuntiter ansteigt, desto geringer sind die Möglichkeiten einer Konzeption. Kontrolluntersuchungen von Virgines ergeben stets negative Resultate. Injektionen von Spermaextrakten soll bei Frauen eine temporäre biologische Infertilität herbeiführen. Die Ursache ist in der spermatotoxischen Wirkung des Zervikalsekretes zu suchen. Der letzte Krieg soll zahlreiche Beweise für die Spermaimmunität geliefert haben. Grund hierfür sei die infolge der langen sexuellen Abstinenz erloschene Spermaimmunität der Ehefrau.

Es wird von ablehnenden Stimmen berichtet, welche an die spermiozide Rolle der Spermaimmunität durch die Resorption der Spermien im weiblichen Körper nicht glauben, außer im Falle von parenteraler fremder Eiweißzufuhr.

Die Menge und die Viskosität des Zervikalschleimes zeigt rhythmische Veränderungen, die vom Ovarialzyklus abhängig sind. Der hohe Oestrogenspiegel in der Proliferationsphase erhöht die Menge und die Viskosität des Zervikalschleimes so stark, daß die Spermien nicht mehr aufsteigen können. Die gleiche Wirkung zeigt das Corpus luteum.

**Hormon.** Eine Konzeption soll deshalb aller Wahrscheinlichkeit nach nur in den Zwischenphasen möglich sein, da nach dem Follikelsprung die Oestrogenproduktion stark abfällt und sich aus diesem Grund die Viskosität des Zervikalschleimes außerordentlich stark vermindert. Außerdem sollen die Spermatozoen in diesem nach der Ovulation abgesonderten Schleim länger überleben und vital bleiben können als in ihrem eigenen Seminalplasma.

Im menschlichen Sperma ist ein Enzym vorhanden, das zur Auflösung des Schleimpfropfes im Zervikalkanal beiträgt. Bei bakteriellen Infektionen des Uterus wird eine Antimucinase gebildet, welche die Wirkung der Mucinase aus dem Sperma aufhebt. Dadurch wird eine Konzeption zum Teil sehr erschwert.

Ein normales Sperma enthält indifferente, acidophile und alkalophile Spermatozoen. Die Reaktionsbreite der Samenfäden ist sehr groß. Im sauren Milieu ist die Lebensdauer der Spermatozoen stark verkürzt, während bei höherer Alkalität eine Agglutination stattfindet. Die Resistenz der Samenfäden eines Individuums ist immerwährenden Schwankungen unterworfen, wie das ja auch bei den anderen Faktoren des Ejakulates der Fall ist. Die mangelnde Widerstandskraft der einzelnen Spermatozoen gegenüber der Reaktion des Milieus kann Ursache einer Infertilität sein.

Die im Samenplasma vorhandene Fruktose entstammt den Bläschen-Drüsen, wo sie schon vor dem Beginn der Spermiogenese gebildet ist. Sie wird von den Spermatozoen anaerob in Energie umgewandelt. Da die Spermien selbst nur über geringe Reserven an energieliefernden Stoffen verfügen, ist die im Seminalplasma vorhandene d-Fruktose für die Befruchtungsvorgänge von größter Bedeutung. Der glykolytische Abbauvorgang hängt von der Zahl und der Bewegungsintensität der Spermatozoen ab und ist an der  $\text{CO}_2$ -Produktion meßbar. Die Fruktolyse ist im Falle der Normospermie annähernd konstant, während der Zuckerabbau bei Oligospermie verlangsamt ist und bei Azoospermie überhaupt nicht stattfindet. Diese Untersuchungsergebnisse werden in einer Tabelle veranschaulicht. Die in einem normalen Ejakulat vorhandene Fruktose reicht aus, 60-500 Millionen Spermatozoen für ca. 18 Stunden mit Energie zu versorgen. Das nach Kastration geschehene Absinken der Zuckerkonzentration läßt sich durch Testosterongaben wieder beheben. Der im Sperma gefundene durchschnittliche Fruktosewert beträgt

200-700 mg pro ccm. Normale Spermatozoen bleiben durch d-Fruktose-zusatz erheblich länger lebend und bewegungsaktiv. Die Spermien sollen in der Lage sein, die im Zervikalschleim vorkommenden Zucker ebenfalls abzubauen. Der glykolytische Abbau, den das Schema veranschaulicht, verläuft ganz ähnlich wie bei der Hefe. Mit dem zuckerabbauenden System steht der hohe Phosphatasegehalt des Ejakulates in Beziehung.

Zelluloseschwefelsäureester hemmt die Fruktolyse und legt den Energiestoffwechsel der Spermien völlig lahm. Dies führte zu seiner Anwendung bei fermentchemischen Praeventivmitteln.

Exakte Analysen der Spermatozoenkerne ergeben, daß diese ausschließlich aus Protaminen und Desoxyribonukleinsäuren aufgebaut sind. Lipoide können höchstens in Spuren enthalten sein. Das Verhältnis Stickstoff zu Phosphor ist ziemlich konstant N:P = 3,55:3,46. Die Überschlagsrechnung aus Kernzahl und Phosphorgehalt ergibt eine Nukleinsäurekonzentration pro Kern von  $5,5 \times 10^{-6}$  g, bei halbem Chromosomensatz  $3,3 \times 10^{-6}$  g.

Zur quantitativen Bestimmung der Desoxyribonukleinsäure in den Spermatozoen wird im allgemeinen die mikro-spekto-photometrische Methode angewandt. Die Ergebnisse stimmen mit dem chemischen Nachweis an demselben Material qualitativ und quantitativ überein. Die Verteilung des Desoxyribonukleinsäuregehaltes pro Spermatozoon in einem fertilen Sperma ist sehr einheitlich, und die Schwankungsbreite beträgt nicht mehr als 9%. Demgegenüber bleiben die Untersuchungsergebnisse auf Zahl, Morphologie und Motilität, trotz nachgewiesener Fertilität von großer Unregelmäßigkeit. Als Durchschnittswert der DNS-Konzentration pro fertilem Spermium wird  $1,22 \cdot 0,005 \times 10^{-6}$  angegeben. Bei Verdacht und bei gesicherter Infertilität ist der DNS-Gehalt der Spermien gegenüber den normal fertilen Spermatozoen herabgesetzt. Außerdem ist auch die Schwankungsbreite der DNS-Konzentration größer und variiert stärker als bei befruchtungsfähigem Samen.

Die Spermatozoen der Säugetiere wandern je nach der Art ihrer Geschlechtschromosomen verschieden im elektrischen Feld bei Anwendung der Kataphorese. Die Spermien mit x-Chromosomen gehen zur Anode, die mit y-Chromosomen zur Kathode. Das Cytoplasma der Samenzelle findet bei der Befruchtung keine Verwendung. Die Überträger

der Erbanlagen sind in den Protaminen zu suchen. Aus einem unreifen Hoden läßt sich kein Protamin isolieren.

Die Wirkung der Proteine soll darin bestehen, daß sie dort, wo das Sperma mit dem zervikalen Mucus in Berührung kommt, Kontaktflächen bilden, die eine Vermischung von zervikalem Schleim mit der Samenflüssigkeit verhindern. Außerdem wird ihnen infolge ihres amphoterer Charakters eine gewisse Schutzkolloidwirkung zugeschrieben. Die Proteinkörper des Samens sind in der Hauptsache Proteosen und Globuline. Das Spermaflüssigkeitseiweiß besteht aus anderen Komponenten wie das Serumeiweiß. Eine sichere Beziehung zwischen der Fertilität und der Proteinkonzentration im Sperma läßt sich nicht feststellen.

Es wird eine Übersicht über die im Sperma gefundenen Aminosäuren gegeben. In der Zusammensetzung sind sich die der Spermatozoen und die des Seminalplasmas sehr ähnlich. Die hohen Argininwerte in den Spermien sollen auf die Zusammensetzung der Protamine zurückzuführen sein. Der freie Aminosäuregehalt des Spermas steht in keiner Beziehung zur Spermienzahl und zum Fruktosegehalt des Ejakulates.

Die hemmende Wirkung des Kupfers für die Fruktolyse und die Motilität der Spermien läßt sich durch Glutathion aufheben. Sulfhydrylgruppen steigern in geringer Konzentration die Atmung der Spermatozoen, während größere Mengen davon die Oxydationsprozesse des Spermas hemmen oder ganz blockieren. Die schwefelhaltigen Aminosäuren sind in der Plasmahaut der Spermatozoen lokalisiert. Das Trimethylbetain, das aus dem Sekret der Bläschendrüsen gewonnen wird, soll eine Schutzwirkung gegenüber den Inaktivatoren der Sulfhydrylgruppen auf die Spermatozoen ausüben. Die aus Widdersperma isolierte Adenosintriphosphorsäure vermag unter anaeroben Bedingungen bewegungslos gewordenen Spermien wieder Motilität zu verleihen.

Eisen, Kupfer und Zink kommen auch im menschlichen Sperma vor, wobei der Kupfer- und Zinkgehalt größer ist als in den übrigen Organen. Kupfer senkt die Motilität der Spermatozoen.

Aus einem Liter Samenflüssigkeit lassen sich 18 g Inosit gewinnen, das ein lipotroper Wachstumsfaktor sein soll und Vitamincharakter besitzt. In keinem anderen Gewebe ist die Konzentration dieses Stoffes so hoch, der aus den akzessorischen Drüsen stammt.

Eine gewisse Beziehung zwischen dem Fruktosegehalt und dem Inositpiegel im Zusammenhang mit der Testosteronproduktion der Leydigzellen soll bestehen.

Über den Ursprung und die Funktion des im Sperma vorhandenen Heptakosan, ein Kohlenwasserstoff, der im alkohollöslichen Teil des Seminalplasmas vorkommt und sich nur schwer in Alkohol lösen läßt, ist bis jetzt noch nichts Näheres bekannt.

Beim Menschen wird die Zitronensäure in der Hauptsache von der Prostata gebildet. Sie wird mit der Motilität und der Gerinnung, ebenso wie der Verflüssigung des Spermas in Zusammenhang gebracht. Außerdem soll sie die Hyaluronidaseaktivität steigern und an der Bildung von Ca-Ionen in der Samenflüssigkeit beteiligt sein.

Die Harnstoffkonzentration in der normalen Samenflüssigkeit ist annähernd doppelt so hoch wie im Blute. Ein starkes Ansteigen ihres Gehaltes sieht man in Fällen von Infertilität.

Fette, Fettsäuren und Lipide sind auch im menschlichen Sperma vorhanden. Im Samen des erwachsenen Mannes beträgt der Lipoidgehalt 4,63 mg pro ccm, während bei Jugendlichen nur eine Konzentration von 1,83 mg pro ccm zu finden ist. Eine Beziehung zwischen der sauren Phosphatase und dem Lipoidgehalt konnte nicht festgestellt werden.

Spermin und Spermidin findet sich als Analogon zu dem aus Ornithin entstehenden Putrescin im Sperma. Spermin, das in den Samenkörpern und ihren Vorstufen nicht nachgewiesen werden kann, wird wahrscheinlich zur Aufrechterhaltung der Wasserstoffionenkonzentration mit herangezogen. Die Möglichkeit, daß die Ruhigstellung der Spermatozoen in den Nebenhoden durch diesen Stoff erreicht wird, ist nicht auszuschließen.

Im Sperma ist eine relativ große Menge an Plasmalogen vorhanden. Das Spermatozoenplasma enthält ein Drittel des Gesamtplasmalogens des Samens. Der Quotient aus Spermienzahl und der Plasmalogenkonzentration ist ziemlich konstant. In pathologischen Fällen kann dieses Monoaminophosphatid im Sperma erniedrigt sein. Die biochemische Bedeutung dieses Stoffes ist bis jetzt noch nicht geklärt.

Als einer der Befruchtungsstoffe wird das Spermalysin genannt, das nicht zu verwechseln ist mit dem Spermatolysin, welches als ab-

norme Substanz im Samen vorkommen kann und für das Absterben sonst normaler Spermatozoen verantwortlich sein soll.

Die Phosphatase entstammt der Prostata und hat ihr pH-Optimum bei einem pH-Wert von 5 bis 6. Die Fermentmenge ist bei ein und demselben Individuum ziemlich konstant. Dieses Enzym spaltet Alpha- und Betaglycerinphosphorsäure und Cholinphosphorsäure. Der Gehalt an saurer Phosphatase im Sperma erfährt durch eine geschlechtliche Ruheperiode keine Veränderung, während die alkalische Phosphatase ansteigt. Die Phosphatasen sind an den Stoffwechselvorgängen in den Zellen des Ejakulates beteiligt. Man findet eine höhere Phosphataseaktivität bei den Zellen der Spermiogenese gegenüber den reifen Spermatozoen. In der Bestimmung der alkalischen Phosphataseaktivität wird ein Kriterium für die Entwicklungsstadien der Zellen der Spermiogenese gesehen. Zu niedriger Phosphatasespiegel im Sperma soll zu Fertilitätsstörungen führen können. Die Phosphatasekonzentration läßt sich durch Verabreichung von Testosteron beträchtlich steigern.

Es wird von einem speziell mucinspaltenden Ferment, der Hyaluronidase, berichtet, welches in den Säugetierspermatozoen nachzuweisen ist und sich dadurch auszeichnet, daß es verschiedene Schleime mesenchymalen Ursprungs unter starker Viskositätsenkung zu hydrolysieren vermag. Zum Unterschied von proteolytischen Fermenten lösen sich durch die Einwirkung der Hyaluronidase keine Follikelzellen auf, und auch die Corona radiata bleibt erhalten, nur der Cumulus oophorus wird augenblicklich verflüssigt.

Als Mucinase bewirkt dieser Fermentkomplex Hydrolyse der hyaluronsäurehaltigen Mucine unter Viskositätsabnahme und dem Auftreten von reduzierenden Substanzen. Entsprechend der Verbreitung und Bedeutung der hyaluronsäurehaltigen Mucine kommt die Hyaluronidase überall dort vor, wo es gilt, im Gewebe den normalen Zellverband zu zerstören. Das an Hyaluronidase reichste Organ ist der Hoden von Säugetieren und Menschen. Sie stammt nicht von irgendwelchen Begleitdrüsen, sondern aus dem Keimepithel des Hodens. Der Höchstgehalt dieses Enzymes wird schon beim Auftreten von Spermatozyten im Hoden erreicht. Der Gesamtgehalt dieses Fermentes im Sperma geht mit der Zahl der Spermatozoen parallel und ist unabhängig von deren Morphologie und Motilität. Die bei Ejakulation freigewordene Hyaluronidase soll unter anderem auch als Antagonist des durch den Or-

gasmus verstärkt ausgeschütteten Thyroxina wirken. Die Erregung bei der Kohabitation soll aktivierend auf das Ferment wirken.

Die chemische Wirkung der Testeshyaluronidase besteht in einem stufenweisen hydrolytischen Abbau der Mucopolysaccharide. Ihr pH-Wirkungsoptimum liegt bei pH 4,5. Außerdem besitzt sie noch ein Nebenoptimum bei pH 6. Dies deutet darauf hin, daß es sich um einen Komplex von mindestens 2 Fermenten handelt. Neben der Ionenkonzentration spielt die Anwesenheit von beschleunigenden oder hemmenden Faktoren auf die Wirkung der Hyaluronidase eine ausschlaggebende Rolle. Spezifische Aktivatoren sind bis jetzt noch nicht bekannt. Ca-Ionen sollen eine günstige Wirkung ausüben. Als Inhibitoren wirken zahlreiche Phenole, deren Wirksamkeit von der Zahl ihrer OH-Gruppen und der Länge ihrer Seitenketten abhängig ist. Saure Polysaccharide stellen Hemmstoffe für dieses Ferment dar. Vesikular-drüsensekret kann die von den Spermien gelieferte Hyaluronidase aktivieren.

Da die Hyaluronidasen echte Eiweißverbindungen sind, stellen sie Antigene dar. Im Tierversuch kann man bei wiederholten Injektionen Antiseren erhalten, die je nach Tierart verschieden und spezifisch sind.

Beim normal fertilen Manne enthält das durchschnittliche Ejakulat von 3-4 ccm etwa 300-400 Millionen Spermatozoen. Die Hyaluronidase verteilt sich nun so, daß sich  $\frac{3}{4}$  des Fermentes in den Spermien befindet und  $\frac{1}{4}$  im Samenplasma. Die Spermien bringen das Enzym an den Ort seiner Wirkung. Allerdings ist der Transport der Hyaluronidase zum Ei nicht unbedingt an die Spermien gebunden, denn es gelingt beim Kaninchen nach intravaginaler Deponierung des Fermentes und nach erfolgter Ovulation, nackte Tubeneier zu gewinnen.

Die Notwendigkeit der Hyaluronidase für die Auflösung des Cumulus oophorus wird als gesichert betrachtet. Außerdem soll das Ferment die ein Ei umhüllende Schleimschicht, die aus der Sekretion der Tube stammt, lockern und für Spermien passierbar machen. Die Corona radiata wird im Verlauf der Passage des Eies durch den dicht mit Cilien besetzten Eileiter mechanisch entfernt. Die Spermahyaluronidase wirkt hierbei unterstützend. Außerdem muß noch ein in den Tuben enthaltener Faktor hinzutreten, damit in vivo die Zellen der Corona radiata abgelöst werden können. Wenn der Auflösung des Cumulus durch die Hyaluronidase auch keine absolute Bedeutung für den Konzeptionsvorgang zukommt, so stellt das Ferment trotzdem einen wesentlichen Faktor für das einzelne Spermatozoon dar, indem es ihm den Weg bahnen hilft und beim Eindringen in das Ei unterstützt. Außerdem soll die Hyaluronidase den Transport des befruchteten Eies durch die Tube ermöglichen oder zumindest erleichtern. Die Fähigkeit des Fermentes, die interzellulären Kittsubstanzen zu lösen, soll eine entscheidende Rolle bei der Nidation des befruchteten Eies spielen. Nach Konzeption durch ein spermienarmes Ejakulat besteht erhöhte Abortgefahr. Als eine der Ursachen wird eine zu niedere Fermentkonzentration in der Tube angenommen. Die inhibitorische Wirkung des Hesperidinphosphates auf die Hyaluronidase findet Anwendung in Antikonzeptiva.

Die Carbohydrase soll die Spermien bei der Durchdringung der Eimembran unterstützen. Eine Carboanhydrase kommt im Sperma nur in einer zu vernachlässigenden Konzentration vor.

Die Dehydrase kann durch Blausäure aktiviert werden, infolge des Aufhebens der Hemmung der Dehydrase durch Keto-, Brenztrauben- und Laevulinsäure. In der Aktivitätsbestimmung der Dehydrase soll ein Maßstab für die Intensität des Stoffwechsels der Spermatozoen gefunden sein.

Die Cytochrome a, b und c kommen im Samen nur in den Spermatozoen und nicht im Plasma vor. Werden die Spermatozoen geschädigt, so läßt sich das Cytochrom c auch in dem umgebenden Medium nachweisen.

Die Cholinesterase ist im Samenplasma enthalten. Eine Lecithinase konnte im Sperma nicht nachgewiesen werden. Die Aminoxydase ist nur im Plasma und nicht in den zelligen Bestandteilen des Samens

zu finden. Ihr Gehalt ist etwa 100mal größer als der des Blutserums. Die Aminooxydase soll ebenso wie die Cholinesterase aufs engste mit der Fortpflanzung und Gravidität verknüpft sein. Als proteolytische Fermente kommen im Sperma das fibrinabbauende Fermentsystem und das Pepsin vor. Eine Aminopeptidase und eine Protease sollen in engem Zusammenhang mit der Verflüssigung des Samens stehen. Die Vesikulase, die sich in der Prostata des Meerschweinchens findet, soll die schnelle Koagulation seines Spermas nach der Begattung einleiten und zur Bildung des Vaginalpfropfes post coitum führen.

Das Vitamin C im Samen stammt aus Hoden und Prostata. Bei Ascorbinsäuremangel sieht man beim Meerschweinchen eine Abnahme der Spermatozoenzahl. Vitamin A-Mangel führt bei Ratten zu einer Degeneration der Samenepithelien. Bei Vitamin E-Mangel treten die gleichen Symptome auf, wie sie beim Ausfall des Hypophysenvorderlappens zu sehen sind. Das Tocopherol soll an der Verhinderung der Kopf-zu-Kopffagglutination beteiligt sein.

Am Schluß der vorliegenden Arbeit möchte ich Herrn Privatdozenten Dr. R. Doepfmer vielmals für die Überlassung des Themas, seine wertvollen Hinweise und die freundliche Unterstützung danken.

Gleichzeitig darf ich Herrn Professor Dr. H. Schuermann für die Übernahme des Korreferates meinen besonderen Dank aussprechen.

QUELLENVERZEICHNIS

- Adam , W. und G.W.Korting: "Die freien Aminosäuren im menschlichen Seminalplasma und ihre klinische Bedeutung." Dtsch.med.Wschr.249-251;1955
- Ardelt: "Erzeugnis von temporärer Sterilität beim weiblichen Tier durch Spermattoxine." Zbl.Gynäk.Nr.44;1931  
"Spermaresorption bei gesunden und genital-kranken Frauen." Zbl.Gynäk.Nr.5;1934
- Austin, C.R. Nature,(London)162,63-64;1948
- Austoni, B.: Boll.Ist.sieroterap.mil.18,245-80;1939
- Bardenheuer, O.: "Die Unfruchtbarkeit der Frau."München 1942
- Baskin, zit.Moench: J.contracept.1,15;1935
- Bayer (Leverkusen): "Zur Physiologie der Spermatozoen." Therap.Berichte Bayer,4,118;1955
- Behring, O.v. Z.Immunforsch.100,1-18;1941
- Bergamini, L.: Arch.Sci.biol.28,293;1942
- Bergenstahl u.Scott: J.Amer.med.Assoc.137,1507;1948
- Birkeland u. Sallman: Amer.J.Physiol.152,271;1948
- Birnberg, Ch.H., D.A. Sherber und R.Kurzrok: Fructose and fructolysis in human semen." Amer.J.Obst.63,877;1952  
ref.:Rauschke Z.f.H.u.G.90,70;1954/55
- Blandau, R.J. und D.L.Odor: Anatom.Rec.103,96;1949
- Boas, N.F.: J.biol.chem.181,573-75;1949
- Boe, J.: Acta Path.Microbiol.Scand.21,587-95;1944
- Boguth, W.: "Über den Plasmalogengehalt im Sperma." Naturwissenschaften 39,432;1952
- Böner, G.: "Die Dehydrierungsfähigkeit der menschl. Spermatozoen in ihrer Beziehung zur Fertilität." Klin.Wschr.24/25,756-757;1947
- Borei, H.,G.Carlström, H.M.Hannson und B.Lundquist: "Comparison between spermylsin,leuko-taxon and detergents as to their capacity to haemolyse and to increase capillary permeability." Ark.Kem.Stockholm 26B,18, 1-6;1949. ref.: Brandt;Ber.Physiol.etc. 141,213;1950
- Brunner, zit.Moench: Human Fertil.10,1941

- Bunting, H.: Ann.N.Y.Acad.Sci.52,977-82;1950
- Byers, S.O., A.Tytell und M.A.Logan: Arch.Biochem.22,66-86; 1949
- Cadili G. und Li Voti: Arch.Sci.med.87,325-32;1949
- Calesnick B. u. R.Beutner: Proc.Soc.exp.Biol.Med.72,629-32;1949
- Cantani A.jun.: "Zur Verwendung des Spermas als Nährbodenzusatz." Zbl.Bakt.Orig.22,601;1897
- Mc Cartney: J.of Physiol.63,2;1923
- Caspersson, T.: Amer.J.Physiol.36,207;1923
- "Über den chem.Aufbau der Strukturen des Zellkernes." Skand.Arch.Physiol.(Berlin u Leipzig)Suppl.;8,73,1-151;1936
- Castellani G.T.: Arch.Ital.Med.Speriment.2,968;1938
- Boll.Ist.sieroterap.Milan.19,332-37;1940
- Chang, M.C.: Proc.Soc.Exp.Biol.Med.66,51-54;1947
- Ann.N.Y.Acad.Sci.52,1192-95;1950
- Chang, M.C.,Pincus u.Pirie: Biochem.19,388;1949
- Chang, M.C.: Proc.soc.exp.Biol.Med.70,32;1949
- Claude, A.: Proc.soc.exp.Biol.Med.43,684-89;1940
- McClellan,J.u.Rowlands: Nature 150,627;1942
- McClellan,J.: J.Path.Bact.54,284;1942
- McClellan,J.und Hale C.W.: Biochem.J.35,159-83;1941
- McClellan,J.: J.Path.Bact.42,477-512;1936
- Dallam, R.D. und E.Thomas: "Chemical fraktionation of mammalian sperm into three parts basic protein, nucleic acid and lipoprotein." Cancer Res.12,256-257;1952. ref.:Rodenberg,Zbl.f.H.u.G.84,110;1953
- Davison, Derow u. Walker: J.Bact.58,717-22;1949
- Davis, M.E., W.William und Mc Cune: "Metabolism of human spermatozoa in semen Fert.and Steril.1,185-186;1950. ref.:Brand;Ber.Physiol.etc.147,349;1951/52
- Delory, G.E.: "Seminal fluid acid phosphatase in sterility." Brit.med.J.4503,566-567;1947. ref.:Hardt,Heidelberg,Zbl.f.H.u.G.72,464;1949
- Dirscherl, W.: "Über das Vorkommen von Androgenen im menschlichen Sperma." Ber.d.I.Sympos.d.Dtsch.Gesell.f.Endocrinol.180-186, Springer Verlag 1955
- Dittler, R.: "Die Sterilisierung des weibl.Tierkörpers durch parenterale Spermazufuhr." Münch.med.Wschr.J.67,52;1920

- Dokumenta Geigy:                      Wissenschaftliche Tabellen 1955
- Dold, H. und Barczyk:                "Besitzt das menschl. Sperma antibakterielle Schutzstoffe?" Z.f.Hygiene 123, 494-499; 1942
- Dorfmann, A.; L.Ott und Whitney:                                J.biol.chem. 174, 621-29; 1948
- Dorfmann, A.:                            Ann.N.Y.Acad.Sci. 52, 1017-20; 1950
- Duran-Reynals, F.:                     J.exp.Med. 55, 703-12; 1932
- Ann.Inst.Pasteur 57, 597; 1936
- Bakteriolog. Rev. 6, 197-252; 1942
- Duran-Reynals u. Fekete:            Proc.Soc.exp.Biol.Med. 52, 119; 1943
- Duran-Reynals u. E.D.Goldsmith: Science(N.York) 110, 74-75; 1949
- Duran-Reynals, F., H.Bunting, u. van Wageningen:                J.exp.Med. 52, 1006-14; 1950
- Eastman:                                J.contracept. 4, 147; 1939
- Eichenberger, E.:                      Gynaecol. 121, 288-329; 1946
- Zschr.Vit.Horm.Fermentforsch. 2, 126-33; 1948
- Exper. 5, 241-42; 1949
- Eichenberger, E. und O.Goossens:                            Schweiz.med.Wschr. 80, 1073; 1950
- Escuder, C.L.:                           An.Fac.Med. 21, 889; 1936
- Evans, H.M.:                            Amer.J.Phys. 99; 1932
- Farris:                                  Human Fertil.The Author's Press, New York; 1950
- Favilli, G. u. M.Campani:            Riv.ital.Ginec. 29, 259; 1946
- Favilli, G.:                              Boll.Soc.Med.Modena 47, 15; 1946
- Mitt.an den 1.Internat.Kongr.f.Physiopath. der tierischen Fortpflanzung u.künstl. Befruchtung. 1948
- Fekete E. und F. Duran-Reynals:                                Proc.Soc.exp.Biol.Med. 52, 119-21; 1943
- Fischer, H.:                              "Über Gallin." Ber.Physiol.etc. 162, 372; 1953/54.
- Friou, G.J.:                              Diseases. 84, 240-51; 1949
- Ann.N.Y.Acad.Sci. 52, 1112-17; 1950
- Friou, G.J. u. Wenner, H.A.: J.Infect.Dis. 80, 38-45; 1950
- Gibian, H.:                                "Chemie, biologische Bedeutung und klinische Anwendung der Hyaluronidase." Angewandte Chemie, Jahrg. 63; Nr. 5, S. 105-117; 1951



- egemann, G.: Arch.f.Hyg.121,331-48;1939
- einsein, H.A.: Dtsch.Med.Wschr.149;1949
- enle,W.u.G.Henle  
A.Chambers: J.exp.Med.68,335;1938
- oppel, L.A. und  
I.Hilmoe: "Purification and properties of 5-nucleo-  
tidase." J.biol.chem.188,665-676;1951
- oppel, L.A. und  
I.Hilmoe: "Mechanism of enzymatic hydrolysis of  
adenosintriphosphate." J.biol.chem.202  
217-226;1953
- aldebrandt, A.: "Praktische Erfahrungen mit einem ferment-  
chemischen Antikonzipiens." Med.Klinik  
51,28,1192;1956
- oppe-Seyler und  
nierfelder: "Handbuch der physiolog.u.patholog.anat.  
Analyse." 10.Aufl.,Bd.5;1953
- uggins,C.u.A.A.Johnson: "Chemical observations on fluids of the  
seminal tracts in organic phosphorus, cal-  
cium non protein nitrogen and glucose con-  
tent of semen and of seminal vesicle pro-  
state and spermatocele fluids in man."  
Am.J.Physiol.103,574-581;1953
- ultin, T. und R.Herne: "Aminoacid analysis of basic protein  
fraction from sperm nuclei of some different  
intervertebrates." Ark.Kem.Stockholm 26 A,  
20,1-8;1949.ref.: Brandt; Ber.Physiol.etc.  
141,213;1950
- umphrey, J.H.: J.Path.Bact.56,273-75;1944
- iversen, K.: Biochem.J.40,435-41,442-45;1946
- "The lipid content of prostatic secretion  
in adolescent children and aged adults and  
its relation to the acid-phosphatase acti-  
vity." Acta med.Scand.(Stockholm)145,34-39,  
1955. ref.: Stark;Ber.Physiol.etc.154,114;  
1954
- acobson, L.: "Free aminoacids in human semen."  
Acta physiol.Scand.(Stockholm)20,88-90;  
1950. ref.:v.Schrader; Ber.Physiol.etc.156  
87;1953
- oel, Ch.A.: "Studium am menschlichen Sperma."  
Benno Schwabe u.Co. Verlag Basel,2.Aufl.S.  
118
- oel Ch.A. und Pollak: Mschr.Geburtsh.109,91;1939
- oel, Ch.A. und  
E. Eichenberger: Ver.Schweiz.Naturforsch.Ges. Sils-Maria;  
1944

Joel, Ch.A. und  
E. Eichenberger

Schweiz.Med.Wschr.78,203;1949

Johnston, Stone, Mixner u.  
J.Dairy:

Sci.32,574-79;1949. ref.:Chem.Abstr.840;  
1949.

Jorpes, E. und  
S.Bergström:

J.biol.Chemie 118,447-57;1937

Kaiser, B.:

"Die Diagnostik und Therapie der Fertili-  
tätsstörung beim Manne." Neue med.Welt,  
46; 1950.

v. Kaulla u. L.B.Shettles:

"Kenntnis des proteolytischen Ferment-  
systems im menschlichen Spermaplasma,  
mucus cervicalis, Tubarschleimhaut u.  
liquor folliculi." Klin. Wschr.1954,  
468-472.

Keller,M. u.Tschumi.:

"Elektrophoretische Studien am menschl.  
Spermaplasma." Gynekologia, 135, 92-95;  
1953.

Kepp u.Vasterling:

"Hyaluronidase u. Abort." Dtsch.med.Wschr  
79, Nr.8,287-90;1954.

Kimmig,J.:

"Die Biochemie des menschl.Sperma." Ber.  
des.I.Sympos. der Gesellschaft für Endo-  
crinol. Springer-Verlag 1955,171-179.

Kimmig,J. u. Schirren:

"Klinische u. biochemische Untersuchungen  
zum Nachweis von Inosit in Gegenwart von  
Fructose am menschlichen Sperma." Der  
Hautarzt, 7,5,S.198-99; Mai 1956.

Koshtoyants,Kh.S.:

Doklady Akad.Nauk.(russ)60, 1105 ref.:  
Chem.Abstr.43,741;1949.

Kühn,A.:

"Vorlesung über die Entwicklungsphysio-  
logie." Springer-Verlag, 1955.

Kulonen, E.:

Acta physiol.Scand.17,170-78;1949.

Kurzrok,R. u.E.G. Miller:

Proc.Soc.exp.Biol.Med.24,670-71; 1927.

Kurzrok und Miller:

Amer.J.obstetr.Gynäk.15,56;1932 u.24,19  
1932.

Kurzrok, R.,

S.L.Leonhard und H.Conrad: Amer.J.Med.1,491-506;1946.

Kurzrok,R. u. S. Leonhard:

Endocrinol.39,85.90;1946.

Kurzrok, R.:

Amer.J.clin.Path. 18, 491; 1948.

Kurzrok, R.:

Ann.N.Y.Acad.Sci. 52, 1180-85; 1950.

Kusche, E.:

Med.Dissert. München 1949.

Landsteiner:

Zbl.Bakter. 25, 346; 1934.

Larvey und Phillips:

Amer.Ber.f.d.ges.Physiol. 128,415; 1941.

MacLeod, J.:

"Sulphydrylgroups in relation to the  
metabolism and motility of human sperma-  
tozoa." J.Gen.Physiol.etc. 34, 705-714;  
1951. ref.:Hanson;Ber.Physiol etc.151,317  
1952.

- Leonhard, S., Perlman, P.L.  
und R.Kurzrok: Endocrinol. 39, 171-76; 1945.
- Leonhard, S. u. P.L. Perlman: Anat. Rec. 96, 47; 1946.
- Leonhard, S., Perlman u. R. Kurzrok: Proc. Soc. exp. Biol. Med. 66, 517-18; 1947.
- Leonhard, S., Perlman u. R. Kurzrok: Endocrinol. 39, 261; 1946.
- Leonhard, S., Perlman u. R. Kurzrok: Endocrinol. 40, 199; 1947.
- Leonhard, S., Perlman u. R. Kurzrok: Endocrinol. 42, 26; 1948.
- Leonhard, S., Perlman u. R. Kurzrok: Endocrinol. 42, 176-80; 1948.
- Leuchtenberger, C., Schrader F.,  
Weir, D.R. u. D.P. Gentile: "The desoxyribonucleic acid content in spermatozoa of fertile and infertile human." Chromosoma 6, 67-78; 1953  
ref.: Siebert; Ber. D. d. ges. Physiol. u. exp. Pharmakol. 167, 236; 1954.
- Leuchtenberger, C. u. R., Weir, D.  
u. F. Schrader: "Reduced amounts of desoxyribose nucleic acid in testicular germ cells of infertile men with active spermatogenesis." Labor. Invest. Vol. 5, Nr. 5; Sept. 1956.
- Leuchtenberger, C. u. R.,  
Vendrely C. u. R.: Exp. Cell Research, Vol. III, Nr. 1; 1952.
- Leuchtenberger, C.: Chromosoma, 3, 449; 1950.
- Leuchtenberger, C. u. R.,  
Weir, D. u. F. Schrader: "Decreased amounts of desoxyribonucleic acid in male germ cells as a possible cause of human male infertility." Acta genet. 6, 272-278; 1956.
- Levine, Garzoli, Kuntz  
u. Killough: J. Parasitol. 34, 158-61; 1948.
- Linn, J. u. Th. L. Ozment: Amer. J. Ophthalm. 33, 33-44; 1950.
- Lotze u. Schulz: "Spermatozoen u. Schwangerschaft." Zbl. Gynäk. Nr. 12; 1932.
- Löwenthal, J. u. A. Gagnon: Can. J. Res. 26 E, 200-05; 1948. ref.: Chem. Abstr. 42, 7347; 1948.
- Lundquist, F.: "Studies on the biochemistry of human semen IV amino acid and proteolytic enzymes." Acta physiol. Scand. 25, 178-187; 1952. ref.: Stark; Ber. Physiol. etc. 158, 74; 1953
- Lundquist, F.: "Glycerophosphoryl choline as a precursor of free choline in mammalian semen." Nature London, 172, 587-588; 1953. ref.: Stark; Ber. Physiol. etc. 165, 17; 1954
- Lundquist, F. und  
H. H. Seedorf: "Pepsinogen in human seminal fluid" Nature London, 170, 1115-1116; 1952. ref.: Ber. Physiol. etc. 163, 37; 1954 (Stark)
- Lurie u. Zappasodi: Arch. Pathol. 34, 151; 1942

- Mann, T. und U.Parsons: "Studies on the metabolism of semen. The role of hormones effect castration, hypophysectomie and diabetes, relation between blood glucose and semen fructose." Biochem. J. 46, 440-450; 1950. ref.: Brandt, Ber. Physiol. etc. 146, 310; 1951
- Mann, T.: Nature, London, 156, 80; 1945  
 "Studies on the metabolism of semen: 7 Cytochrome in human semen." Biochem. J. 48, 386-388; 1951. ref.: Ber. Physiol. etc. 153, 309; 1952  
 "Inositol a major constituent of the seminal vesicle secretion of the boar." Nature, London, 168, 1034-1044; 1951. ref.: Ber. Physiol. etc. 152, 309; 1952  
 "The biochemistry of semen." London, S. 97, 1954
- Mawson, C.A. u. M.I. Fischer: "Zinc and carbonic anhydrase in human semen" Biochem. J. 55, 696-700; 1953. ref.: Stark; Ber. Physiol. etc. 165, 339; 1954  
 "The occurrence of zinc in the human prostatic gland." Cand. Z. med. Sci. 30, 336-339; 1952 ref.: Cremer; Ber. Physiol. etc. 162, 271; 1953/54
- Mayer: "Die Resorption des Spermas." Klin. Wschr. 1, 1142; 1922
- Metschnikow: Ann. Inst. Pasteur, Paris, 14, 367; 1941
- Meyer, K.: Physiol. Rev. 27, 335-59; 1947
- Meyer, K. u. E. Chaffee: J. biol. chem. 138, 491-99; 1941
- Meyer, K., E. Chaffee, G.L. Hobby und M.H. Dawson: J. exp. Med. 73, 309-26; 1940
- Michelson und Koets: J. Ur. 61, 799; 1949  
 J. Ur. 61, 803; 1949
- Moench, G.L.: "Biologie und Pathologie des Weibes." 2, 360; 1935
- Monroy, A. und A. Ruffo: Nature, London, 159, 603-04; 1947
- Moore: Proc. Soc. exp. Biol. Med. 69, 391-93; 1948
- Moore u. Harris: J. biol. chem. 179, 377-81; 1949
- Moricard, R.: Gynec. et obstetr. 54, 6; 1946  
 Rev. Franc. Gynec. obstetr. 43, 161; 1948
- Niendorf, F.: Arch. Gynäk. 180, 234; 1951  
 Münch. Med. Wschr. 95, 366; 1953
- Nikolowski, W.: "Beziehungen und Abhängigkeit von Spermiogenese und Prostatasekretion." Dermat. Wschr. 237-243; 1949
- Oakley, C.L.: Ann. Inst. Pasteur 77, 380-88; 1949
- Orlobina, L.S.: Zhur. Mikrobiol. Epidemiol. (russ.) Nr. 9, 202; 1947. ref.: Chem. Abstr. 43, 7087; 1949

- Palla: Boll.Soc.Ital.biol.speriment 22,719-21;  
1946.ref.:Chem.Abstr.40,3194;1946
- Pellizzari, C.: Ann.Ost.Ginecol.1940
- Perloff, W.H. und J.H.Nodine: Fertility and Sterility 1,373;1950
- Peterson S.M.: "On the coppercontent in human saliva and sperm."Scand.J.clin.and laborat.Invest.2, 335-336;1950.ref.:Rodenberg:Zbl.f.H.u.G.79 412;1952
- Pijoan, M.: J.exp.Med.53,37-42;1931
- Pike, R.M. und N.Salem: J.Bact.54,282;1947
- Pike, R.M.: J.Infect.Disease 83,1-18;1948
- Ann.N.Y.Acad.Sci.52,1070-73;1950.
- Pincus, G. und E.V.Enzmann: J.exp.Medicine 62,665-75;1935
- J.exp.Zool.73,195-208;1936
- Ponthus, P. und A. Hussen: C.v.Soc.Bio. Paris 116, 538-541, 1934  
ref. Halle, Zbl. f.H.u.G. 50, 544, 1934
- Pradham, M.G.: Brit.exp.J.Pathol.18,90;1937
- Quick: Amer.J.Physiol.77,51;1926
- Quinn, R.W.: J.Immun.61,185-91;1948
- Ann.N.Y.Acad.Sci.52,1118-24;1950
- Raboch, J. und J.Hradec: "Die quantitative Fructosebestimmung im menschlichen Ejakulat." Endocrinol.31, 171-184;1954.ref.:Kiessling;Z.f.H.u.G.91, 418;1955
- Ragan, C. und A. De Lamater: Proc.Soc.exp.Biol.Med.50,349-51;1942
- Ragan,C. und K.Meyer: Ann.N.Y.Acad.Sci.52,1108-11;1950
- Raid, I.T., G.M.Word und R.L. Sulzburg: "Effect of certain factors upon the level of the plasma phosphatase of breeding bull#  
Ann.J.Physiol.152,280-285;1948.ref.:Brandt,  
Ber.Physiol.etc.138,233;1944
- "Acid and alkine phosphatase levels in consecutive semen ejaculates from bull."  
Ann.J.Physiol.153,235-241;1948.ref.:Brandt;  
Ber..Physiol.etc.138,233;1949
- Riisfeldt,O.: Acta Endocrinol.(1949),zit.O.Riisfeldt:  
Nature(London)163,874;1949
- Endocrinol.45,622-24;1949
- Nordisk.Med.42,1892;1949
- Z.Vitamin-Hormon-u.Fermentfischg.3,66-68;  
1950
- Rizatti, E.: Boll.Soc.Med.Chir.Modena 41,321;1941
- Boll.Soc.Med.Chir.Modena 42,606;1942
- Boll.Soc.Med.Chir.Modena 43,230;1943

- Lane-Roberts, C.: "Sterility and impaired fertility." 1948, Med.book department of Harbour and Brothers N.York
- Rogers, H.I. Biochem.J. 39, 435-43; 1945  
J.Pathol.Bacteriol. 40, 583; 1946  
J.Pathol.Bacteriol. 40, 782-88; 1946  
J.Pathol.Bacteriol. 42, 633-40; 1948
- Rothschild: Brit.med.J. 1947. ref.: Banks H. J.Clin. invest. 2, 548-52; 1949
- Rowlands: Nature, London, 153, 332; 1944  
Nature, London, 154, 332-33; 1944
- Rudder, B.: Dtsch.Med.Wschr. 75, 313-15; 1950
- Russel, B.E. und N.P.Sherwood: J.Infect.Diseases 84, 81-87; 1949
- Sallmann B. und J.M.Birkeland: Amer.J.Physiol. 152, 271-79; 1948  
Ann.N.Y.Acad.Sci. 52, 1062-69; 1950  
Ann.N.Y.Acad.Sci. 52, 1086-91; 1950
- Sarkar, B.C.R., R.W. Lueke und C.W.Duran: "The aminoacid composition of borin semen." J.Biol.chem. 171, 463-465; 1947.ref.: v.Schrader; Ber.Physiol.etc. 138, 446; 1949
- Schirren: "Biochem.Untersuchungen am menschlichen Sperma." Medizinische 24, 872; 1955
- Schreier, K.(russ.): "Über das Auftreten der Hyaluronidase in der Uteruswand beim Befruchtungsprozeß." Dokl.Akad.Nauk.UDSSR, N.S. 85, 867-870; 1952 ref.: Schreier (Heidelberg)
- Schröder, V.: "Die physikal.-chem.Analyse der Spermienphysiologie.VIII.Mitteilg.über die künstliche Geschlechtsregulierung bei Säugetieren durch Anwendung der Kataphorese und ihre biologische Kontrolle." Bull.acad.Sci.UDSSR Ser.Biol. 426-447; 1940.russ.mit deutsch. Zusp. ref.: Eichler; Zbl.f.Gynäk. 1720; 1941
- Seifter, J., O.H.Baeder und A.Dervinis: Proc.Soc.exp.Biol.Med. 72, 136-41; 1949
- Seifter, J., D.H.Baeder und A.J.Begany: Proc.Soc.exp.Biol.Med. 72, 277-82; 1949  
Ann.N.Y.Acad.Sci. 52, 1141-55; 1950
- Seifter, J.: Endocrinol. 42, 20-25; 1948
- Sherber, D.A., C.H.Birnberg u.R.Kurzrok: Trans.Amer.Soc.f.Stud.o.Steril.Vol.III, 98; 1947
- Siegler: "A new Antifertility Factor." Sci.Vol.116, 3015; 1952

- Stary, Z. und S.Tekman: "Die Hyaluronidase bei der Befruchtung und ihre Bedeutung für die männliche und weibliche Sterilität." Münch.med.Wschr.J. 93,Nr.30/31;1951
- Stiasny, H.: "Unfruchtbarkeit beim Mann." 53-56;1949
- Suto, R.: "Weitere Untersuchungen über die Wirkung der Blausäure auf die Dehydrogenisierung der Spermatozoen." Jap.J.Zool.8,449-458;1940 ref.:Belonoschkin,Ber.Physiol.122,380;1941
- Swyer, G.J.M.: Nature,London,159,873;1947  
Biochem.J.Brit.41,409;413-417;1947 und 42,28,32;1948
- Swyer und Emmens: Conference on Infertility,Cambridge 1948, S.15
- Taylor, P.W., H.R.Morgan: "Antibacterial substances in human semen and prostatic fluid." Surg.etc.94,662-668; 1952
- Thomas, L.E. und D.T. Mayer: "The protein of mammalian spermatozoa and cellular nuclei." Sci.Lancaster 110,393-394;1949
- Thompson, R.T.: J.Lab.Clin.Med.33,919-32;1948.ref.:Chem. Abstr.42;8975b;1948
- Tobin, Bergenstahl und Steffee: Arch.Biochem.16,373-78;1948
- Tyler, T.: J.Amer.Med.Assoc.146,307;1951  
J.Amer.Med.Assoc.153,1351;1953  
"Fructose in infertility." Fert.and Ster.6, 3,246-258;1955
- Vandelli: Boll.Ist.Sieroterap.Milan26,109;1947
- Vendrelly,R. und C.Vendrelly: "Arginin and desoxyribonucleic acid content of erythrocyte nucleic and sperms of some species of fishes." Nature,London,172,30-31;1953
- Voit, K. u. Seckfort: "Das Plasmalogen im Rahmen des Fett- und Lipidstoffwechsels unter physiolog.u. patholog.Bedingungen." Dtsch.Med.Wschr.80, 241;1955
- Wagner-Jauregg,T.: "Über das Vorkommen des Heptakosans im menschl.Sperma." Hoppe-Seyler;2,269,56-58; 1941. ref.:Klauer;Ber.Physiol.etc.129,203; 1942
- Waldstein und Ekler: Wien.Klin.Wschr.Nr.42;1912
- Wallenfels, K.: "Mucinspaltende Fermente." Angewandte Chemie 54,234-237;1941.  
"Die Bedeutung der Hyaluronidase für Befruchtung und Fortpflanzung." Angewandte Chemie,63,218;1951

- Walton, A.: Proc.Roy.Soc., London, 101, 303; 1927
- Wang: Chin.J.Physiol. 10, 53; 1936
- Werle, E., F.Turtur u. R.Bauereis: Biochem.Z. 319, 542-48; 1949
- Werthessen, Berman, Greenberg u. Gargill: J.Ur. 54, 565; 1945
- Weyeneth, R.: "Diagnostic de la sterilité masculine." Schw.Rundschr.f.Med.Nr.19, Jhrg.39; 1950
- White, I.G.: "The effect of some seminal constituents and relate substances on diluted mammalian spermatozoa." Austral.J.Biol.Sci. 7, 379-390 1954. ref.: Stark; Ber.Physiol. 174, 145; 1955
- Wu Szu-Hsiao, Elliker, P.R. u. F.F. Mc Kenzie: "The effect of Escherichia coli on the semen of bull rams and rabbits." Stat.Tech. Bullet.Nr.27; Jan 1953
- Yamane, J.: Cytologia Tokio 1, 394; 1930. ref.: Ber. Physiol. 23, 63; 1931
- Cytologia Tokio 1, 394; 1930. ref.: Ber. Physiol. 90, 49; 1936 und 62, 63; 1935
- Yildrian, C.: "Spermatolysis, a cause of male sterility." Brit.med.J. 4604, 575-576; 1949. ref.: Bross, Mannheim, Zbl.f.H.u.G. 80, 312; 1952
- Zamenhof, S.; L.B.Shettles u. Cargaff, E.: "Isolation of desoxypentose nucleic acid from human sperms." Nature London 165, 756; 1950
- Zeller, F.A.: "Über das Vorkommen der Diaminooxydase im menschl.Sperma." 9. Mitteilg. über den enzymatischen Abbau von Poliaminen.
- Zittle, Ch.A. und R.A. O'Dell: "Chemical studies of bull spermatozoa, the methionine content of whole spermatozoa and of the ports obtained by physical means." J.biol.chem. 141, 239-243; 1941. ref.: Kanitz, Ber.Physiol. etc. 130, 522; 1942

## LEBENS LAUF

Am 18. Januar 1929 wurde ich als Sohn des Postbeamten Johannes Peter in Ulm an der Donau geboren. Ab 1936 besuchte ich dort die Volksschule bis zu meinem Eintritt in das humanistische Gymnasium 1940. Vom Herbst 1944 bis Kriegsende tat ich Dienst bei einer militärähnlichen Einheit. Im Jahre 1950 legte ich meine Reifeprüfung am humanistischen Gymnasium zu Ulm ab.

Das Medizinstudium begann ich 1951 in Regensburg, wo ich im Herbst 1953 das medizinische Vorexamen ablegte. Die ersten zwei klinischen Semester hörte ich in Tübingen und Freiburg, um dann nach Würzburg zu gehen. Das medizinische Staatsexamen beendete ich am 5. November 1957 an der Julius-Maximilians-Universität Würzburg. Die Arbeiten zu dieser Dissertation begann ich im Frühjahr 1955 und beendete sie im Februar 1958.

Ich versichere ehrenwörtlich, daß ich vorliegende Arbeit selbständig verfaßt und außer der angegebenen Literatur keine anderen Hilfsquellen benutzt habe.

Ich versichere ehrenwörtlich, daß ich bisher von keiner anderen Seite ein Dissertationsthema zur endgültigen Bearbeitung erhalten habe.

Guntram Peter





